



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS PECUARIAS

**“EXTRACCIÓN Y UTILIZACIÓN DE DIFERENTES NIVELES (2 %, 4 %, 6 %)
DEL COLAGENO DE LA VEJIGA NATATORIA DEL BAGRE (B. panamensis)
EN SALCHICHA DE MARISCOS”.**

TRABAJO DE TITULACIÓN
TIPO: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Previo a la obtención del Título de:
INGENIERAS EN INDUSTRIAS PECUARIAS

AUTORAS:
ANDREA PAULINA SALGUERO GAVILANES
ARIANA LISBETH VARGAS MESA

Riobamba – Ecuador

2018

Este trabajo de titulación fue aprobado por el siguiente tribunal

Ing. César Iván Flores Mancheno. Ph. D.

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

BQF. M.g. Sandra Elizabeth López Sampedro.

DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN

Ing. M. Cs. Armando Vinicio Paredes Peralta.

ASESOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN.

Riobamba, 29 de Enero del 2018.

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Nosotros, Andrea Paulina Salguero Gavilanes, con cedula 060411632-7, y Ariana Lisbeth Vargas Mesa, con cedula, 220022259-0, declaramos que el presente trabajo de titulación es de nuestra autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autores asumimos la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación.

Andrea Paulina Salguero Gavilanes

CI: 060411632-7

Ariana Lisbeth Vargas Mesa

CI: 220022259-0

Riobamba, 29 de Enero del 2018.

AGRADECIMIENTO

Un agradecimiento profundo e inmenso a Dios por permitirme tener vida para cumplir cada uno de mis sueños, por guiarme y cuidarme en el camino para lograrlos.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por la formación profesional que nos ha brindado, en especial a la Escuela de Ingeniería en Industrias Pecuarias por haberme impartido grandes enseñanzas para competir laboralmente frente a la sociedad.

A la directora de tesis BQF. Sandra López y BQF. Alicia Zavala; quienes han sabido guiarnos en el transcurso de esta investigación, y demás que nos apoyaron en este trabajo.

Ariana Vargas Mesa.

DEDICATORIA

A Dios por regalarme la oportunidad de vivir junto a una maravillosa y extraordinaria familia; y cumplir uno de mis grandes objetivos.

A mis padres Agustín y Vilma quienes son los principales educadores y guías en mi formación personal e intelectual, que día a día se han esforzado por darme un futuro mejor y acompañarme a lo largo del camino, incentivándome a no darme por vencida persistiendo en cada uno de mis propósitos.

A mis hermanos Fernando, Jairo, en especial a Angelita que ha sido mi hermana, amiga, madre y compañera de alegrías y tristezas, quien con su amor siempre me apoyo incondicionalmente, gracias por preocuparse y compartir sus vidas conmigo.

A mis amigos Andrea, Andrés y Mario quienes han estado conmigo demostrándome cariño, lealtad y respeto, acompañándome en la travesía de nuestra vida politécnica y disfrutado de momentos únicos y hermosos.

Gracias a todos por formar parte de esta extraordinaria experiencia y que contribuyeron de alguna manera que este reto culminara exitosamente y que a través de este trabajo se refleje el esfuerzo de cada una de nosotras.

.

Ariana Vargas Mesa.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradecer a Dios por siempre orientarme en cada paso de mi vida como es llegar a cumplir una meta muy importante y sobre todo por permitirme tener y disfrutar a mi familia.

Gracias a mis padres, que fueron mis mayores promotores durante este proceso, por siempre confiar en mí y darme el ánimo necesario para seguir a pesar que a veces las cosas no eran color de rosa.

Gracias a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, gracias por haberme permitido formarme y en ella, sobre todo gracias a la Carrera de Ingeniería en Industrias Pecuarias, por haberme permitido adquirir conocimientos para poder ser una buena profesional.

A los docentes que durante el transcurso de la carrera universitaria compartieron sus conocimientos y por cada momento dedicado para aclarar cualquier tipo de duda que me surgiera, en especial a la directora del trabajo de titulación BQF. Sandra López por la paciencia y dedicación para sacar adelante esta investigación. A la BQF. Alicia Zavala por compartir sus conocimientos y a la Ing. Paulina Abraján quien siempre estuvo presente con su ayuda como profesora y como amiga.

Andrea Salguero Gavilanes.

DEDICATORIA

Dedico mi trabajo de titulación principalmente a Dios, por darme la fuerza para continuar y cumplir cada una de mis metas, además por bendecirme en cada minuto de mi vida.

A mi padre, Eduardo Salguero, por enseñarme que todo lo que se consigue en la vida con trabajo y esfuerzo es duradero y satisfactorio.

A mi madre, Nelly Gavilanes, por brindarme, su amor y sus consejos incondicionalmente.

A mis hermanos de corazón Ariana, Mario y Andrés con quienes disfrute cada momento de la vida politécnica, les agradezco por su ayuda desinteresada, por echarme una mano cuando siempre la necesité y siempre brindarme su cariño.

Gracias a todas las personas que durante estos años estuvieron apoyándome para que este sueño se haga realidad.

Hoy les puedo decir familia lo logramos.

CONTENIDO

	Pág.
Lista de tablas	v
Lista de figuras	vi
Lista de gráficos	vii
Lista de anexos	viii
I. <u>INTRODUCCIÓN.</u>	1
II. <u>REVISIÓN DE LITERATURA.</u>	3
A. SITUACIÓN ACTUAL DE LA PESCA EN ECUADOR.	3
1. <u>Residuos generados en la industria pesquera.</u>	3
2. <u>Problemas en la industrialización de productos pesqueros en el país.</u>	4
a. Factor económico.	4
b. Factor social.	4
3. <u>Especies pesqueras de interés industrial.</u>	4
4. <u>Legislación</u>	6
B. BAGRE (B. panamensis)	6
1. <u>Generalidades</u>	6
2. <u>Clasificación taxonómica.</u>	7
3. <u>Características.</u>	7
a. Morfológicas.	7
b. Fisiológicas:	9
4. <u>Vejiga Natatoria.</u>	9
a. Características.	9
b. Calidad de la materia prima.	11
c. Usos.	11
d. Disponibilidad.	12
C. COLÁGENO.	13
1. <u>Definiciones.</u>	13
2. <u>Importancia de las proteínas.</u>	14
a. Capacidad amortiguadora.	14
b. Solubilidad.	14

c.	Desnaturalización	14
d.	Especificidad	15
e.	Indicador de calidad	15
3.	<u>Estructura del colágeno.</u>	16
4.	<u>Métodos de Extracción.</u>	17
a.	Método de extracción ácido-básico.	17
b.	Método enzimático.	18
5.	<u>Caracterización del colágeno.</u>	19
a.	Electroforesis en gel de policriamida	19
b.	Espectrofotometría UV-VIS.	19
c.	Calorimetría diferencial de barrido DSC.	20
d.	Espectrofotometría de masas MALDI/TOF.	21
6.	<u>Fuentes de Obtención.</u>	21
7.	<u>Usos del colágeno.</u>	22
D.	EMBUTIDOS.	23
1.	<u>Generalidades.</u>	23
2.	<u>Clasificación de los embutidos.</u>	24
a.	Ebutidos crudos	24
b.	Ebutidos cocidos	25
c.	Ebutidos escaldados	25
(1).	Salchicha Viena	25
3.	<u>Legislación.</u>	26
4.	<u>Ingredientes cárnicos.</u>	28
a.	Camarón	28
(1).	Camarón (<i>Litopenaeus occidentalis</i>)	29
b.	Pescado	29
5.	<u>Ingredientes no Cárnicos</u>	30
a.	Colágeno.	30
b.	Fosfatos.	31
c.	Nitritos o Nitratos.	31
d.	Espicias.	31
e.	Sal.	32
f.	Grasa.	32
g.	Hielo.	32

III. MATERIALES Y MÉTODOS.	33
A. LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DE LAS PRÁCTICAS.	33
B. UNIDADES EXPERIMENTALES.	33
C. MATERIALES, EQUIPOS E INSTALACIONES.	34
1. <u>Para el colágeno.</u>	34
2. <u>Para la salchicha.</u>	37
D. TRATAMIENTO Y DISEÑO EXPERIMENTAL.	39
1. Esquema del experimento.	40
E. MEDICIONES EXPERIMENTALES.	40
F. ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA.	42
1. Esquema del ADEVA	42
G. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.	42
1. <u>Extracción de colágeno.</u>	42
a. Recepción, desinfección y desangrado.	43
b. Medio básico	43
c. Medio ácido.	43
d. Medio enzimático	43
e. Liofilización y almacenamiento	44
2. <u>Elaboración de la salchicha de mariscos.</u>	44
a. Programa sanitario	44
b. Recepción de la materia prima.	44
c. Cortado.	44
d. Molido.	45
e. Cutteado.	45
f. Embutido y cocido	46
h. Enfriamiento y almacenamiento	46
H. METODOLOGÍA DE LA EVALUACIÓN.	46
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	55
A. ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO DEL COLÁGENO.	55
1. <u>Contenido de proteína.</u>	55
2. <u>Contenido de humedad.</u>	56
3. <u>Contenido de cenizas.</u>	57
4. <u>pH.</u>	58
5. <u>Capacidad de retención de agua.</u>	59

6.	<u>Capacidad de emulsificación.</u>	60
7.	<u>Conductividad.</u>	61
8.	<u>Contenido de hidroxiprolina.</u>	61
B.	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL COLÁGENO	62
C.	ANÁLISIS SENSORIAL DEL COLÁGENO	63
D.	RENDIMIENTO.	64
E.	ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO DE LA SALCHICHA DE MARISCOS.	64
1.	<u>Contenido de proteína.</u>	65
2.	<u>Contenido de cenizas.</u>	66
3.	<u>Contenido de humedad.</u>	67
4.	<u>Contenido de grasa.</u>	67
5.	<u>Contenido de ELN.</u>	68
6.	<u>pH.</u>	69
7.	<u>Capacidad de retención de agua.</u>	70
8.	<u>Capacidad de emulsificación.</u>	71
F.	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA SALCHICHA.	72
G.	ANÁLISIS SENSORIAL DE LA SALCHICHA.	72
1.	<u>Dureza</u>	73
2.	<u>Elasticidad.</u>	74
3.	<u>Pálido.</u>	75
H.	EVALUACIÓN ECONÓMICA.	76
1.	<u>Costo de producción.</u>	76
2.	<u>Beneficio costos.</u>	76
V.	<u>CONCLUSIONES.</u>	78
VI.	<u>RECOMENDACIONES.</u>	80
VII.	<u>LITERATURA CITADA.</u>	81

RESUMEN

El colágeno es una proteína estructural que contiene aminoácidos como la hidroxiprolina, indicativo de su calidad. La extracción de colágeno de la vejiga natatoria del bagre (*B. panamensis*) se realizó mediante un método básico-ácido-enzimático, para su posterior aplicación en salchicha de mariscos. La extracción y caracterización se realizó en el Laboratorio de Bromatología y Nutrición Animal ESPOCH, obteniéndose los resultados de proteína 76,86 %, humedad 9,02 %, cenizas 14,12 %, pH 4,55 %, capacidad de retención de agua 0,02 %, capacidad de emulsificación 47,08 %, conductividad, 32 μ s, hidroxiprolina 44, 08 % y ausencia de UFC/gr. La elaboración de salchicha de mariscos se hizo en la Planta de Cárnicos, ESPOCH, utilizando tres niveles de colágeno (2 %, 4 %, 6 %) empleando 16 unidades experimentales divididas en 4 tratamientos con 4 repeticiones bajo un DCA, mediante ADEVA y la prueba de Turkey. La adición de colágeno al 6 % incremento los resultados de proteína (21,21 %), extracto libre de nitrógeno (0,44 %) y cenizas (10,74 %), mientras que la humedad disminuyó y la grasa se mantiene. La capacidad de retención de agua fue 24,87 %, la capacidad de emulsificación 58,57 % y pH ligeramente ácido. El análisis microbiológico reportó ausencia de UFC/gr. La valoración organoléptica presento diferencias significativas en la textura para la dureza, elasticidad y luminosidad.

Palabras claves:

Extracción, vejiga natatoria, bagre, colágeno, hidroxiprolina, salchicha

ABSTRACT

Collagen is a structural protein that contains non-essential amino acids such as hydroxyproline, indicating the quality of the protein. The extraction of collagen from the swim bladder of catfish (*B. panamensis*) was carried out by means of a basic-acid-enzymatic method for its subsequent application in sausage made of seafood. In the Laboratory of Animal Nutrition and Bromatology, ESPOCH, collagen was extracted and characterized by presenting a protein content of 76.86%, humidity 9.02%, ash 14.12% pH 4.55, water retention capacity 0.02%, emulsification capacity 47.08%, conductivity of 0.32us and hydroxyproline 44.48% and absence of UFC/gr. The seafood sausage was made in the plant of Meat Products, at ESPOCH with different levels (0%, 2%, 4% and 6%) of collagen, using 16 experimental units divided into 4 treatments with 4 replications, which were distributed under a DCA; the results were analyzed by ADEV A and Tukey test. The addition of collagen in the preparation of seafood sausage; influenced the bromatological composition, increasing the percentage of protein to (21.41 %) to 6%, the ashes to (10.74% to 2%, nitrogen-free extract from (0.44%) to 4%, the humidity decreased (60.03%) when using 6% of collagen and the fat content is maintained in (8%). The pH is slightly acidic, the water retention capacity increased by using the 6% of collagen with a value of (24.87%) and the emulsification capacity is high when using the level of 6% with a value of (58.57%), with respect to other levels used. In microbiological analysis was reported absence of CFU/ gr. In the organoleptic evaluation, significant differences in the texture for hardness, elasticity and luminosity were presented.

Keywords: Extraction, swim bladder, catfish, collagen, hydroxyproline, sausage.



LISTA DE TABLAS

N°	Pág.
Tabla 1. CAPTURAS DE ATÚN.	5
Tabla 2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL BAGRE.	7
Tabla 3. REQUISITOS MICROBIOLOGICOS PARA EMBUTIDOS.	26
Tabla 4. TAXONÓMICA DEL CAMARÓN.	29
Tabla 5. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL DORADO.	30
Tabla 6. CONDICIONES METEOROLOGICAS.	33
Tabla 7. ESQUEMA DEL EXPERIMENTO.	40
Tabla 8. ANALISIS DE LA VARIANZA.	42
Tabla 9. FORMULACION DE LA SALCHICHA DE MARISCOS.	45
Tabla 10. COMPOSICION FÍSICO-QUÍMICO DEL COLAGENO.	55
Tabla 11. REQUISITOS Y RESULTADOS MICROBIOLOGICOS DEL COLAGENO.	63
Tabla 12. EVALUACIÓN DESCRIPTIVA DEL COLAGENO.	63
Tabla 13. RENDIMIENTO DEL COLAGENO.	63
Tabla 14. COMPOSICION FÍSICO-QUÍMICO DE LA SALCHICHA DE MARISCOS	65
Tabla 15. ANALISIS MICROBIOLOGICO DE LA SALCHICHA DE MARISCOS.	72
Tabla 16. ANALISIS SENSORIAL DE LA SALCHICHA DE MARISCOS.	73
Tabla 17. COSTOS DE PRODUCCION DEL COLAGENO.	76
Tabla 18. BENEFICIO COSTO.	77

LISTA DE FIGURAS

N°	Pág.
Figura 1. Anatomía interna del bagre	8
Figura 2. Vejiga natatoria de los bagres. (a, b y e) Superficie ventral, mostrando el conducto neumático. (d, e y f) Aspecto interno de la porción ventral, mostrando la tabicación interna.	10
Figura 3. Fórmula estructural de la prolina e hidroxiprolina.	15
Figura 4. Estructura de las fibras de colágeno.	16
Figura 5. Emulsión cárnica.	24

LISTA DE GRÁFICOS

N°	Pág.
Gráfico 1. Contenido de proteína del colágeno	56
Gráfico 2. Contenido de humedad del colágeno	57
Gráfico 3. Contenido de cenizas del colágeno	58
Gráfico 4. pH del colágeno	59
Gráfico 5. Capacidad de retención de agua del colágeno	60
Gráfico 6. Capacidad de emulsificación del colágeno	60
Gráfico 7. Conductividad del colágeno	61
Gráfico 8. Contenido de hidroxiprolina	62
Gráfico 9. Contenido de proteína de la salchicha de mariscos	66
Gráfico 10. Contenido de cenizas de la salchicha de mariscos	66
Gráfico 11. Contenido de humedad de la salchicha de mariscos	67
Gráfico 12. Contenido de grasa de la salchicha de mariscos	68
Gráfico 13. Contenido de ELN de la salchicha de mariscos	69
Gráfico 14. pH de la salchicha de mariscos	70
Gráfico 15. Capacidad de retención de agua de la salchicha de mariscos	70
Gráfico 16. Capacidad de emulsificación de la salchicha de mariscos	71
Gráfico 17. Atributo Dureza de la salchicha de mariscos	74
Gráfico 18. Atributo Elasticidad de la salchicha de mariscos	75
Gráfico 19. Atributo Pálido de la salchicha de mariscos	75

LISTA DE ANEXOS

Nº

1. PRUEBA DESCRIPTIVA.
2. CURVA PATRÓN PARA EL CÁLCULO DE HIDROXIPROLINA
3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL CONTENIDO DE HUMEDAD DE LA SALCHICHA DE MARISCOS.
4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL CONTENIDO DE CENIZAS DE LA SALCHICHA DE MARISCOS. ALMACENAMIENTO DE LAS CUBETAS.
5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL CONTENIDO DE HUMEDAD DE LA SALCHICHA DE MARISCOS. ABASTECIMIENTO DE BALANCEADO.
6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL CONTENIDO DE GRASA DE LA SALCHICHA DE MARISCOS.
7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL CONTENIDO DE EXTRACTO LIBRE DE NITRÓGENO DE LA SALCHICHA DE MARISCOS.
8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL pH DE LA SALCHICHA DE MARISCOS.
9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA DE LA SALCHICHA DE MARISCOS.
10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA CAPACIDAD DE EMULSIFICACIÓN DE LA SALCHICHA DE MARISCOS.
11. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL ATRIBUTO DE DUREZA DE LA SALCHICHA DE MARISCOS.
12. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL ATRIBUTO DE ELASTICIDAD LA SALCHICHA DE MARISCOS
13. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL ATRIBUTO DE PÁLIDO LA SALCHICHA DE MARISCOS VITAMINIZACIÓN.

I. INTRODUCCIÓN.

El Ecuador es un país que posee gran cantidad y variedad de recursos pesqueros marítimos. En consecuencia, es posible su explotación y su aprovechamiento como producto crudo o procesado, Robalino & Montaña, (2008). La industria pesquera genera gran cantidad de residuos como escamas, espinas, piel y vísceras, los mismos que son desechados y provocan efectos ambientales adversos, por ese motivo se ha buscado industrializarlos como fuente de materia prima para la elaboración de subproductos, entre los más comunes harinas y fertilizantes. Estudios recientes revelan que estos residuos pesqueros son utilizados con la finalidad de extraer colágeno debido a su extensa demanda y aplicaciones tanto en la industria farmacéutica, cosmetológica, biomédica como alimentaria, (Jinhua, et. al, 2016).

El colágeno se caracteriza por ser una de las proteínas más abundantes en la matriz extracelular y constituir del 25 al 30 % de todas las proteínas de los organismos animales Dasong et al., (2015). Al ser un componente relevante en los tejidos conectivos del cuerpo (músculos, huesos, dientes y piel) y encontrarse en el tejido intersticial de todos los órganos, mantiene la estructura de los tejidos animales y mejora la fuerza, resistencia, y flexibilidad de los tejidos, (Nagai, 2003).

Dado a las importantes características del colágeno se emplea principalmente en la elaboración de gelatina, productos específicos como mermelada, jalea y productos bajos en grasa. También se usa ampliamente para la modificación de la textura y la vida útil de lácteos, espumas, geles, dispersiones y emulsiones Yuste, (2015). Exclusivamente las proteínas e hidrolizados son usados en embutidos por dos razones: incrementar el contenido proteico del producto terminado y por su capacidad para retener agua, (Ortega, 2014).

De acuerdo a las afirmaciones anteriores la presente trabajo experimental tiene la finalidad de extraer colágeno de la vejiga natatoria del bagre mediante un método

básico-ácido-enzimático y aplicar el producto obtenido en un producto cárnico como la salchicha de mariscos.

Por lo que se plantearon los siguientes objetivos:

- Extraer el colágeno de la vejiga natatoria del bagre (*B. panamensis*) utilizando diferentes métodos de extracción.
- Caracterizar el colágeno mediante los análisis físicos-químicos, sensoriales y microbiológicos.
- Analizar las características físico-químicas, microbiológicas y sensoriales de la salchicha de mariscos elaborado con colágeno de la vejiga natatoria del bagre.
- Conocer los costos de producción de la salchicha de mariscos elaborado con colágeno de la vejiga natatoria del bagre.

II. REVISIÓN DE LITERATURA.

A. SITUACIÓN ACTUAL DE LA PESCA EN EL MUNDO Y EN ECUADOR

La situación de la pesca marina mundial ha tenido cambios significativos desde 1950. Por tal motivo el volumen de la pesca y los desembarques también han variado a lo largo de la historia. Este incremento es producto de la combinación de crecimiento demográfico, aumento de los ingresos y urbanización. El país con mayor disponibilidad de pescado es China debido a su expansión en la producción pesquera especialmente acuícola. La acuicultura ha contribuido al aumento de los productos pesqueros en el comercio internacional con especies de alto valor como: salmón, camarón y gamba, pero también con especies de bajo valor como la tilapia, el bagre y la carpa. Las cuales son comercializadas en grandes cantidades en continentes como Asia y América especialmente américa del Sur, (FAO, 2014).

El sector pesquero ecuatoriano contribuye con un 7 % al Producto Interno bruto (PIB), siendo uno de los sectores más dinámicos de la economía del país. Esta actividad está dividida en dos subsectores, el industrial y el artesanal, los cuales, se caracterizan por generar empleo y ocupación al sector primario para alrededor de 120.000 personas y en el secundario para 30.000 aproximadamente, (García, et al., 2014).

Para mejorar las condiciones socio-económicas del sector pesquero se han desarrollado programas y proyectos de apoyo. También con el fin de preservar las especies marinas del país la Subsecretaría de Recursos Pesqueros (SRP), ha emitido una serie de acuerdos ministeriales para el ordenamiento pesquero, (García, et al., 2014).

1. Residuos generados por la industria pesquera.

A escala mundial se elaboran casi 70 millones de toneladas de pescado que se expenden en presentaciones como: filetes, congelados, enlatados o curados. Esta actividad genera gran cantidad de subproductos entre ellos la cabeza, la estructura ósea, las aletas, el hígado, vejigas natatorias y los huevos; todos ellos contienen proteínas de gran calidad, lípidos con ácidos grasos omega-3 de cadena larga, micronutrientes como vitamina A y D, riboflavina y niacina y minerales como hierro, zinc, selenio y yodo, (Martínez, 2012).

Los avances tecnológicos han permitido utilizar de forma más eficiente los subproductos, convirtiéndolos en productos destinados al consumo humano como salchichas, gelatina y salsas. Otros subproductos que se obtienen a partir de las conchas es el carbonato de calcio, de uso industrial y polvo de concha que se emplea en la fabricación de productos farmacéuticos y cosméticos, las escamas de pescado se aprovecha para elaborar plata de pez pigmento iridiscente y las vísceras son fuente de colágeno que es de interés industrial para la de la elaboración de alimentos y cosméticos, (FAO, 2014).

2. Problemas en la industrialización de productos pesqueros en el país.

a. Factor económico

A pesar de los avances e innovaciones técnicas de muchos países, el Ecuador es un país en vías de desarrollo lo que dificulta la construcción de industrias dedicadas a la transformación de subproductos perjudicando el aprovechamiento de los mismos y convirtiéndose en un país generador de residuos por la gran actividad pesquera desarrollada en las costas ecuatorianas, (Cedeño, 2015).

b. Factor Social

Los subproductos no se han logrado comercializar a pesar de la importancia industrial a nivel mundial, debido a su baja aceptación por parte de los consumidores

o porque la reglamentación sanitaria que restringe su utilización por razones de inocuidad y calidad alimentaria, (Cedeño, 2015).

3. Especies pesquera de interés industrial.

La actividad pesquera está presente en toda la costa del país. Por tal motivo existen un sinnúmero de empresas dedicadas a la captura, proceso, empaque y exportación de productos terminados, logrando que el Ecuador sea una referente mundial de productos del mar, (Robalino, 2010).

ProEcuador, (2014), expresa que los peces pequeños forman parte de los recursos pesqueros de mayor importancia económica y social del Ecuador, la actividad extractiva, desembarques, procesamiento (enlatados y harina de pescado) y exportaciones genera un rubro importante de divisas para el país. El principal producto que se expende es el atún pasando por el dorado, conocido en el mercado internacional como: mahi, pez espada, wahoo y demás peces; por lo cual la pesca fresca se destina un 8 % a la exportación y el restante 7 % al consumo local. En la Tabla 1 se indica las especies de atún que se exportan y seguidamente se indica el nombre de las otras especies de peces y productos que se exportan son: Atún, Sardina, Dorado, Pez Espada, Miramelindo, Pámpano, Carita, Tiburón, Sierra, Merluza, Camarón, Melva, Wahoo, Macarela, Jaiba, Picudo, Calamar, Caballas, Jurel, Corvina, Pargo, Cherna, Harina de pescado.

Tabla 1. CAPTURAS DE ATÚN.

Especie	(ton)
Aleta amarilla	237.659
Barrilete	258.438
Patudo	52.812
Aleta azul	5.266
Bonitas	2.944
Barrilete negro	3.784

Otros	1.468
Total	562.371

Fuente: ProEcuador 2014.

Dentro de la acuicultura los principales productos que se cultivan son: el camarón y la tilapia. En donde Ecuador puede ofertar 400 millones de libras anuales de camarón (camarón blanco o *Litopenaeus vannamei* representa más del 95 % de la producción ecuatoriana), incluyendo productos de valor agregado y 50.000 toneladas de tilapia al año, como producto en filetes (representan el 95 % de las exportaciones de este producto), entero, fresco o congelado. Esto debido a las ventajas climáticas del país que permiten que se genere varias cosechas por año, (ProEcuador, 2014).

4. Legislación.

En 2005 se expidió la Codificación de la Ley de Pesca y Desarrollo Pesquero, esta ley establece que los recursos bioacuáticos son bienes nacionales cuyo aprovechamiento será regulado por el Estado de acuerdo a sus intereses. El Estado impulsará la investigación científica que permita conocer las existencias de recursos bioacuáticos de posible explotación con el fin de aprovechar dichos recursos para que contribuya a fortalecer la economía nacional. Mediante Acuerdo Ministerial 89 del 17 de mayo de 2007 se creó la Subsecretaría de Acuicultura como Unidad Ejecutora del MAGAP, encargada de ejecutar todas las acciones de regulación y control establecidas en la Ley de Pesca y Desarrollo Pesquero, su reglamento y demás normativas. Se plantea impulsar la coordinación de los actores en los diferentes eslabones de la cadena, para estimular una mayor articulación, inclusión y equidad en la generación y repartición del valor agregado. Con esto se propone movilizar recursos financieros e institucionales para el fomento de las condiciones productivas, para la investigación y desarrollo, para poder promover la especialización, innovación y diversificación de la producción a lo largo de la cadena (Ministerio de Agricultura Ganadería Acuicultura y Pesca MAGAP, 2016).

B. BAGRE (*B. panamensis*).

1. Generalidades.

La palabra bagre procede del griego: ichthys (pez) ailouros (gato), y se conoce comúnmente como pez gato debido a las barbillas que se extienden a cada lado de la mandíbula superior e inferior, semejantes a los bigotes de un gato. Son peces del orden Siluriformes comúnmente llamados bagres, tienen alrededor de 33 familias, 400 géneros y más de 3093 especies; en América también se las llama nicuros. (CONAPESCA, 2012). Es una especie que se encuentra distribuido entre el sur del golfo de California hasta las costas del Perú. Muy común en aguas cálidas, es de hábitos nocturnos, se oculta entre piedras y troncos para emerger después de las lluvias a buscar alimento (FAO, 2010).

2. Clasificación taxonómica del *B. panamensis*.

La clasificación taxonómica del *B. panamensis* se presenta en la Tabla 2.

Tabla 2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL *B. panamensis*.

Reino:	Animalia
Filo:	Chordata
Clase:	Actinopterygii
Subclase:	Neopterygii
Superorden:	Ostariophysi
Orden:	Siluriformes

Familia:	Ariidae
Género:	Bagre
Especie:	<u><i>B. panemensis</i></u>
Nombre común:	Bagre Azul o Pez gato

Fuente: (Álvarez, 2012).

3. Características.

a. **Morfológicas.**

El Bagre Azul (*B. panamensis*) es una especie dermesal que habita en aguas marinas, llega a alcanzar los 38 cm de longitud total y generalmente, es capturado con redes y anzuelos. Su cuerpo es estrechado posteriormente, perfil dorsal recto y empinado, hocico ancho y achatado, boca arqueada, sub inferior alcanzando hasta el nivel del ojo, labios ausentes excepto en la comisura bucal, escudo cefálico liso, estriado sobre un proceso supra occipital angosto o más extenso, cuadrado o foliáceo; surco dorsal mediano estrecho más profundo posteriormente. Dientes finos y cónicos, los mandibulares dispuestos en una banda transversal en la parte anterior del paladar. La línea lateral bifurcada en la base de la aleta caudal. Base de la aleta adiposa corta; espina de la dorsal sin filamento, aleta anal con 25-30 radios, aleta pectoral con una espina y 12-13 radios, la espina terminada en un filamento aplanado que alcanza el origen de la anal, lóbulos de la caudal largos y delgados, color azul-verdoso oscuro con reflejos cobrizos o dorados, vientre blanco plateado, a veces con puntos dispersos más oscuros, aletas oscuras blanquecinas, (Álvarez, 2012a).

La cavidad visceral es notablemente amplia en la parte anterior y en el sentido transversal. El esófago es aplanado y recibe dorsalmente al conducto neumático de la vejiga natatoria. El estómago es amplio y largo en su porción cardíaca, y en la pilórica, corto y orientado hacia la izquierda. El duodeno inicia desde el píloro una amplia asa, que rodea anteriormente al estómago, hace contacto con el hígado y se

dirige hacia atrás por el costado derecho del estómago seguidamente el intestino forma una masa de pequeñas asas, posteriores al estómago y ventrales al riñón; un asa dorsal de tamaño mediano se adelanta por el lado izquierdo del estómago y el último tramo intestinal es recto. El hígado presenta una porción media, ventral al esófago, de la cual se forman dos grandes lóbulos laterales, cuyas superficies dorsales cóncavas están en contacto con la vejiga natatoria. La vesícula biliar, colocada en el lado interno del lóbulo hepático derecho, envía el conducto biliar, (Guarnizo, 2007). La anatomía anteriormente mencionada se muestra en la Fig. 1.

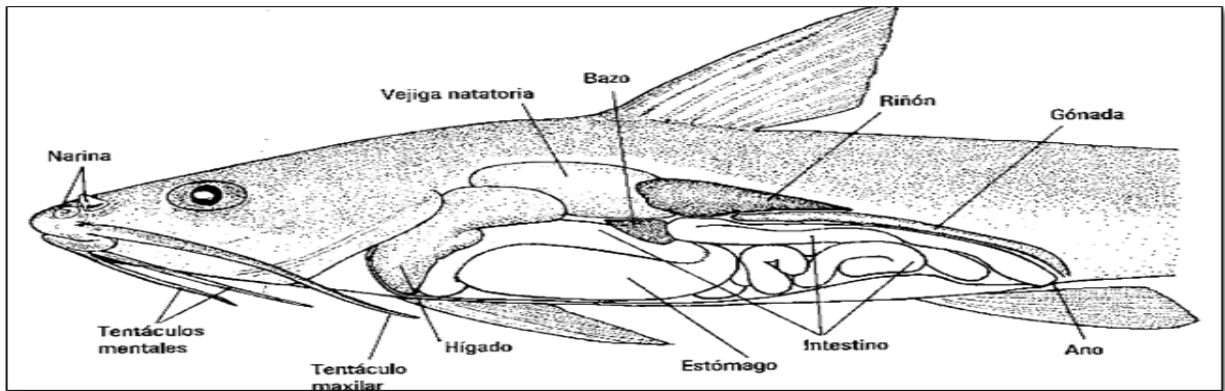


Figura 1. Anatomía interna del bagre (Kobelkowsky & Castillo, 1995).

b. Fisiológicas.

La mayoría de los estudios anatómicos, hacen referencia al llamado aparato de Weber, como mecanismo de transmisión del sonido. Carecen de tentáculos nasales, por ellos los tentáculos metionanos y maxilar sirven como olfato y ayudan en la localización del alimento debido a la presencia de papilas gustativas, además tienen una función táctil. La presencia de placas dentadas en el paladar, sobre el vómer y/o los palatinos, proporciona superficies rugosas que permiten el manejo de presas vivas, tales como peces y crustáceos. Las placas dentadas faríngeas superiores e inferiores, contribuyen parcialmente en el fraccionamiento del alimento antes de pasarlo al esófago. Previo a la época de reproducción, en ambos sexos se acumula grasa entre las vísceras, se reduce el diámetro intestinal y el tamaño

del estómago en las hembras mientras maduran los ovarios, y en los machos mientras incuban los huevos en la cavidad orofaríngea, (González, 2006).

4. Vejiga Natatoria.

La vejiga natatoria se puede definir como una bolsa transparente, con paredes muy vascularizadas, que se encuentra en la parte superior de la cavidad abdominal del pez. Desempeña la función de lastre, permitiendo al pez estabilizarse entre dos aguas (profundas y superficiales) y evitando que nada con el vientre hacia arriba, Vast, (2016). Varios autores mencionan, Gil, et.al., (2014) que la vejiga natatoria o vejiga de gas es también conocida como “buche de pescado” en muchos países sudamericanos. Entre las funciones que se le atribuyen destacan su participación en la flotabilidad, recepción y producción de sonidos (en el caso del bagre existe una cadena de huesecillos que conectan la pared de la vejiga con el oído interno) para atraer a la hembra durante la agregación reproductiva y percepción de la presión e incluso respiración.

a. Características.

Kobelkowsky & Castillo, (1995), manifiestan que la vejiga natatoria, está formada por una sola cámara de forma acorazonada Fig. 2 (a, b, c), está aplanada dorso ventralmente y firmemente adosada al complejo vertebral, estando los osículos de Weber cerca del llamado proceso vertebral. El conducto neumático parte del lado derecho del esófago y se conecta a la superficie ventral de la vejiga, continuándose internamente en forma de surco Fig. 2 (d, e y f). Las paredes de este órgano son gruesas y fibrosas, y forman hacia el interior tabiques, que subdividen parcialmente en espacios de varias dimensiones. Los tabiques principales están formados por uno en el plano sagital y otros en posición transversal, mientras que los secundarios forman pequeños contrafuertes.

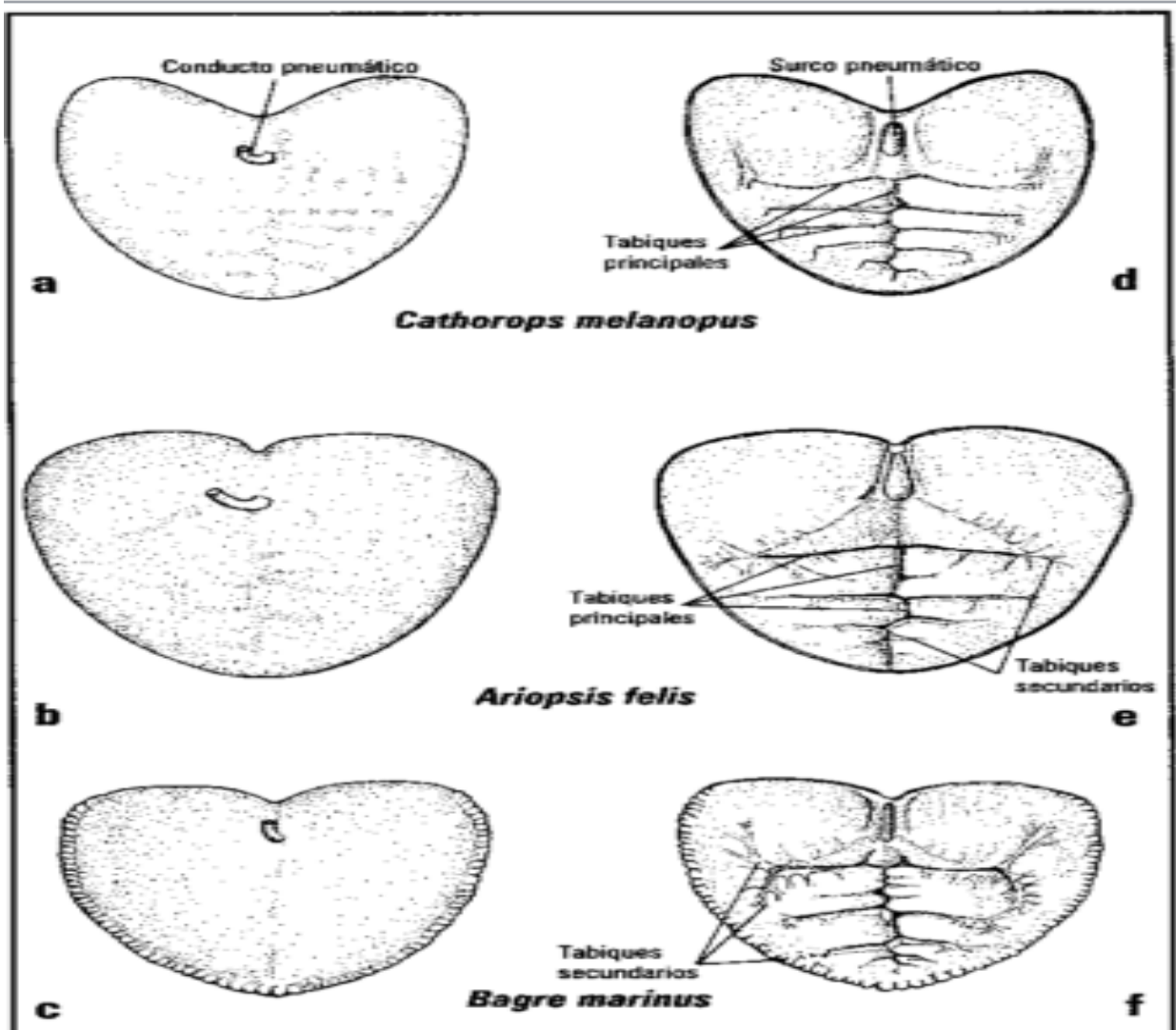


Figura 2. Vejiga natatoria de los bagres. (a, b y e) Superficie ventral, mostrando el conducto neumático. (d, e y f) Aspecto interno de la porción ventral, mostrando la tabicación interna, (Kobelkowsky & Castillo, 1995).

El tamaño de la vejiga natatoria en los peces, es variable. Así pues, en las especies marinas puede llegar a representar el 5 % del peso del animal, mientras que en los de agua dulce puede llegar hasta el 7 %. El buche de pescado o vejiga natatoria ocupa entre el 4 y el 11 % del volumen del cuerpo, del 4 al 6 % en especies marinas, y del 7 al 11 % en peces de aguas continentales, debido a la diferente densidad del medio, (Bohórquez, 2015).

b. Calidad de la materia prima.

La vejiga natatoria o “Buche” es uno de los platillos altamente valorados en China al igual que el pepino de mar y aleta de tiburón por sus altos valores nutritivos. Contiene altos contenidos de colágeno, proteínas, fósforo, calcio. Una de las características más importantes es el contenido de proteínas de alta viscosidad del gel y mucopolisacáridos, que son largas cadenas lineales de azúcares complejos, muchos de ellos unidos a proteínas formando proteoglicanos. Están situadas en la superficie de las células y en la matriz extracelular, a la que aportan viscosidad. El “Buche” cuando ha sido almacenado durante mucho tiempo y se expone a la luz solar, su textura es más dura y su color amarillo dorado se vuelve más oscuro, lo que permite que sea más atractivo para los clientes, ya que si se seca completamente puede dar la capacidad de expansión al tiempo de su preparación, (Torres, Pacheco, Sotelo, Rouzaud, & Ezquera, 2008).

Tanto el colágeno como la gelatina obtenidas de los subproductos pesqueros son proteínas únicas, comparadas con otras proteínas de pescado, ya que son ricas en aminoácidos no polares como glicina, alanina, valina y prolina. La gelatina derivada de pescados se ha convertido en una interesante alternativa al empleo de gelatina procedente de mamíferos terrestres, a pesar de su precio, (Martínez, 2012).

c. Usos.

El colágeno y la gelatina obtenidos de las vejigas natatorias tienen importantes aplicaciones tecnológicas y/o nutraceuticas. Dentro de los usos culinarios que se le da a la vejiga natatoria es en la preparación de un platillo exótico originario del continente Asiático. Es una sopa denominada “Seen Kow”, la cual comentan los investigadores, es una especie de caldo gelatinoso, que aseguran sirve para dar mayor potencia sexual, disminuir el colesterol, mejorar la circulación e incluso rejuvenecer la piel, porque contiene colágeno, (Comensal, 2015).

d. Disponibilidad.

China consume más de un tercio de los productos marinos siendo el mayor consumidor a nivel mundial. Los chinos buscan nuevas fuentes de productos marinos de lujo (como pepino de mar, aleta de tiburón, almeja generosa, buche y medusa) aumentando su demanda, por tal motivo, identifican nuevos mercados para obtener especies de lujo para fines gastronómicos y medicinales, logrando rápidamente consecuencias económicas para aquellos pescadores que aprovechan esta oportunidad debido a su alto precio de comercialización contribuyendo a la sobrepesca, (GroupCaplog, 2014).

En el Ecuador la ventas de especies marinas de lujo, particularmente de buche de pescado o vejiga natatoria ha incrementado debido a la existencia de consumidores locales o externos un poco más selectivos en referente al rubro de alimentos provenientes de mar, es así que en los mercados locales y en los puertos pesqueros existen personas que recolectan buche de pescado o vejiga natatoria para procesarlos y posteriormente comercializarlos. No existen datos estadísticos que puedan describir la cantidad exacta de producción de este producto particular ya que su venta es informal, (Bohórquez, 2015).

De acuerdo con Eduardo Salguero Jiménez, comerciante de mariscos en el Mercado "La Condamine", nos indica que la vejiga natatoria es obtenido del bagre azul. Este pescado llega a la ciudad de Riobamba tres veces a la semana en una cantidad aproximada de una tonelada. El bagre antes de ser vendido es eviscerado, proceso del cual se extrae el "buche", se estima que se obtiene 726 unidades diarias en todo el Cantón Riobamba. En consecuencia se demuestra que existe materia prima para elaborar subproductos que contribuyan al desarrollo económico, tecnológico e industrial del Ecuador.

C. COLÁGENO.

1. Definiciones.

Voet & Voet, (2006) indica que el colágeno proviene (del griego: Kolla, pegamento), presente en los animales multicelulares. Es una proteína extracelular que se encuentran organizada en fibras solubles de gran fuerza tensil, CECOPESCA, (2012); que forman largas cadenas y posee una estructura secundaria en forma de enrollamiento helicoidal, (Torres, et. al, 2008).

Abad, (2015) Indica que el colágeno contiene aproximadamente un 30 % de glicina proporciona una estructura compacta y un 25 % de dos aminoácidos especiales: la hidroxiprolina e hidroxilisina que proporcionan la rigidez a la hélice. Algunos tipos de colágeno que se han clasificado de acuerdo a su ubicación y del tejido del que forman parte, entre ellos son:

- Colágeno tipo I: Abundante en la dermis, hueso, tendón y córnea. Su función principal es la de resistencia al estiramiento.
- Colágeno tipo II: Localizado sobre todo en el cartílago formando fibrillas finas. Es sintetizado por los condrocitos que se encargan de mantener la matriz cartilaginosa. Su función principal es la resistencia a la presión intermitente. Este tipo es el más utilizado en los suplementos y estudios revisados para curar o mantener la salud en las articulaciones.
- Colágeno tipo III: Abunda en el tejido conjuntivo laxo, paredes de vasos sanguíneos, dermis y el estroma de glándulas. Sintetizado por las células del músculo liso, fibroblasto y glía. Tiene una función de sostén de los órganos expandibles.
- Colágeno tipo IV: Forma la lámina basal que subyace a los epitelios. Sintetizado por las células epiteliales y endoteliales. Tiene una función principal de sostén y filtración.

2. Importancia de las proteínas en el colágeno

Según Serrano, (2011) todas las proteínas son polímeros, y los α -aminoácidos son los monómeros que se combinan para formarlas. Las proteínas en el colágeno tienen varias funciones, como se indica a continuación:

a. Capacidad amortiguadora.

Tienen esta capacidad por tener un comportamiento anfótero, esto las hace capaces de neutralizar las variaciones de pH del medio, ya que pueden comportarse como un ácido o una base y por tanto liberar o retirar protones (H^+) del medio en donde se encuentran.

b. Solubilidad.

Las proteínas son solubles en agua cuando adoptan una conformación globular. La solubilidad es gracias a la presencia de radicales (-R) libres de los aminoácidos que, al ionizarse establecen enlaces débiles (puentes de hidrógeno) con las moléculas de agua. Por ello cuando una proteína se solubiliza queda recubierta de una capa de moléculas de agua que no le permite unirse a otras proteínas, lo cual provoca su precipitación o insolubilización.

c. Desnaturalización.

Se refiere a la ruptura de los enlaces que mantienen sus estructuras cuaternarias, terciarias y secundarias, conservándose solamente la primaria. Convirtiendo a las proteínas en filamentos lineales y delgados que se entrelazan para dar lugar a compuestos fibrosos e insolubles en agua. Los agentes que desnaturalizan a las proteínas son: calor excesivo, sustancias que modifican el pH, alteraciones en la concentración, alta salinidad y agitación molecular.

d. Especificidad.

Se refiere a que cada una de las especies de seres vivos es capaz de fabricar sus propias proteínas diferentes de las de otras especies y aún dentro de una misma especie hay diferencias proteicas entre los distintos individuos. La especificidad de las proteínas explica algunos fenómenos biológicos como: la compatibilidad o no de trasplantes de órganos, injertos biológicos, sueros sanguíneos o los procesos alérgicos e incluso algunas infecciones.

e. Indicador de calidad

Los aminoácidos son moléculas que contienen nitrógeno que sirven como bloques de construcción de proteínas como el colágeno, entre ellos tenemos a la prolina, que es un aminoácido cíclico (Pérez, 2013). La prolina tienen la capacidad de modificarse químicamente una vez se ha ensamblado en las proteínas, para convertirse en 4-hidroxiprolina, Fig. 3, entre prolina e hidroxiprolina forman el 20-30 % del colágeno, (Serrano, 2011).

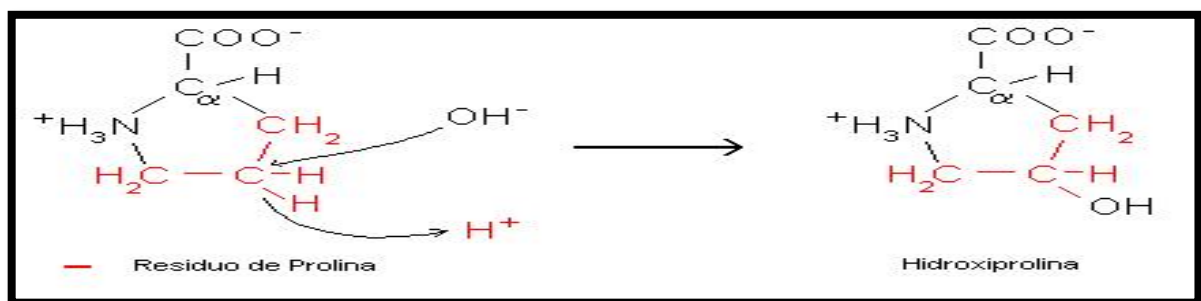


Figura 3. Formula estructural de la prolina y la hidroxiprolina, (Serrano, 2011).

La presencia de hidroxiprolina se utiliza como criterio analítico para evaluar la cantidad de colágeno presente en el producto, siendo sinónimo de calidad. Específicamente el contenido de hidroxiprolina en el colágeno difiere de una especie a otra, dependiendo del tipo genético de colágeno y tejido del cual es aislado, interviene en la estabilización de proteínas, debido a la formación de puentes de

hidrógeno, (Romero, 2016).

3. Estructura del colágeno.

Es una proteína en forma de varilla de 3000 aminoácidos de longitud y solamente 15 aminoácidos de diámetro. Las cadenas polipeptídicas se mantienen unidas por enlaces de hidrogeno, (Castro, 2012). La estructura cristalina del colágeno se muestra en la Fig. 4. Los aminoácidos como la glicina junto a la prolina y a la lisina forman la proteína de colágeno, en donde la glicina es el aminoácido principal ya que cada uno de los tres aminoácidos de la cadena de péptidos de colágeno es una glicina: por lo tanto, es un aminoácido abundante, importante para la estructura del colágeno, (Luque, 2011).

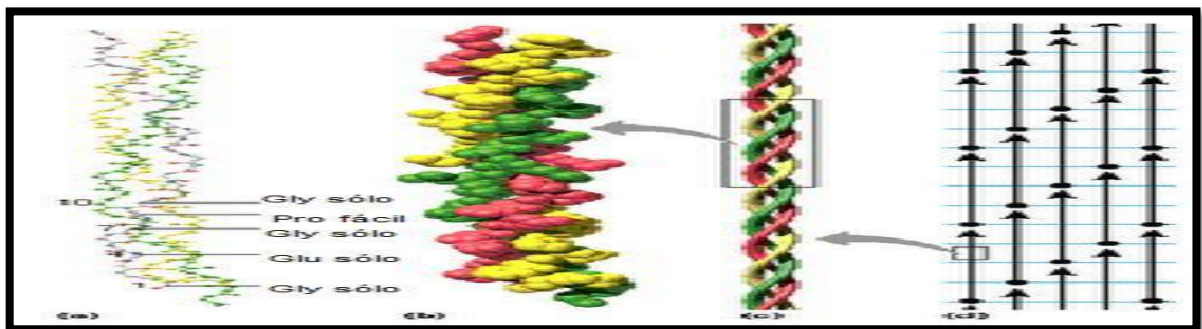


Figura 4. Estructura de las fibras de colágeno (Serrano, 2011).

Luque, (2011), indica que los fibroblastos lo secretan como procolágeno. De las regiones amino y carboxilo terminales de cada una de sus tres cadenas, son escindidas enzimáticamente por procolágeno peptidasas extracelulares, pequeños polipéptidos de estructura primaria diferente al resto de las cadenas. Dando lugar a moléculas de tropocolágeno de menor masa molecular que el procolágeno. La formación de fibras de colágeno tiene lugar en el espacio extracelular, cerca de la superficie celular y no dentro de los fibroblastos. El diseño estructural fundamental de la fibra del colágeno es el de una formación escalonada de moléculas de tropocolágeno, repetida cada cinco filas. La molécula de tropocolágeno mide 300 nm de longitud y entre las moléculas de cada fila hay una brecha de 40 nm. Además

dentro de la estructura del colágeno tenemos láminas beta o láminas plegadas que son regiones de proteínas que adoptan una estructura en zigzag y se asocian entre sí estableciendo uniones mediante enlaces de hidrógeno intercatenarios. Todos los enlaces peptídicos participan en estos enlaces cruzados, confiriendo así gran estabilidad a la estructura. La forma en beta es una conformación simple formada por dos o más cadenas polipeptídicas paralelas que van en el mismo sentido o que corren en direcciones opuestas y se adosan estrechamente por medio de puentes de hidrógeno y diversos arreglos entre los radicales libres de los aminoácidos. Esta conformación tiene una estructura laminar y plegada. La misma investigación menciona que la estructura terciaria se llama así a la disposición tridimensional de todos los átomos que componen la proteína. La estructura terciaria de una proteína es responsable directa de sus propiedades biológicas, ya que la disposición espacial de los distintos grupos funcionales determina su interacción, (Luque, 2011).

4. Métodos de Extracción.

Dentro de las materias primas proporcionadas del pescado tenemos la vejiga natatoria o buche de pescado, en la cual se encuentra una cantidad de colágeno considerable para su extracción mediante métodos que se describirán a continuación:

a. Método de extracción ácido-básico.

Primero se realiza la eliminación de la grasa con alcohol que es la eliminación de la proteína no colágena utilizando hidróxido de sodio, el cual hidroliza las proteínas permitiendo su eliminación con lavados posteriores. Se recomienda usar alcoholes de bajo peso molecular, no dejan residuos y pueden ser recuperados fácilmente gracias a su baja presión de vapor. El control de esta etapa debe ser cuidadoso debido a que el hidróxido de sodio puede hidrolizar el colágeno. En segundo lugar se realiza una solubilización en medio ácido es posible utilizar ácido acético o pepsina en medio ácido, la selección entre uno y otro debe tener en cuenta el uso final de la

proteína extraída, teniendo en consideración que el ácido acético solubiliza la proteína y la pepsina la hidroliza para que siendo una molécula más pequeña se solubilice. Por último la etapa de purificación tiene como paso la precipitación en cloruro de sodio para separar la proteína de la anterior solución ácida, seguida de la etapa de centrifugación y resolubilización para finalmente dializar y eliminar los iones cloruro y sodio libres solubles durante la precipitación. Es conveniente trabajar a una temperatura de 4 °C, con el fin de evitar al máximo la desnaturalización de la proteína, (Serrano, 2011).

Otra investigación se basa en el mismo método ácido–básico, el que difiere en un tratamiento térmico a una temperatura de 90 °C por 30 minutos para limpiar el material. La materia prima se separa en dos partes iguales, una parte se sumergió en hidróxido de sodio al 7 % y la segunda parte en concentración al 5 %. Las dos muestras después de estar en contacto con este reactivo al medio ambiente por 24 horas, se someten a un lavado continuo hasta alcanzar un pH neutro; a continuación las dos muestras por separado se sumergen en ácido cítrico al 5 % durante 45 minutos a temperatura ambiente. Finalmente la solución centrifugada se procede a secar el producto en el interior de un horno de bandejas a una temperatura de 50 °C por 24 horas, (Peralta, Rivera, & Gualdrón, 2012).

b. Método enzimático

El método enzimático fue definido por Gomez et al., (2011), el cual menciona el uso de acetona en lugar de la solución de NaCl (0.15-1 M) para retirar del tejido adiposo y otras proteínas diferentes a la colágena. El tejido es lavado con agua desionizada y se corta en pequeños fragmentos, después se sumerge en acetona y se deja en refrigeración por 12 horas. Luego se retira la acetona y se lavó nuevamente con agua desionizada con el fin de retirar por completo el tejido adiposo. Una vez ya limpio el tejido utilizado se liofilizó y guardó hasta su uso. El proceso de extracción se llevó a una temperatura de 4 °C, se toma una muestra de 10 g de tejido liofilizado el cual se

mezcla en 50 volúmenes de ácido acético al 0.5 M, con un pH 2.5 (ajustado con HCl 1 M) usando un homogeneizador, con lo que se forma una masa gelatinosa debido al hinchamiento de las fibras de colágeno por la intromisión de las moléculas de ácido acético que provocan la pérdida de la estructura secundaria de la proteína dificultando la solubilización de la mezcla. Posteriormente se toma 50 g de la masa gelatinosa y se agrega ácido acético hasta su completa homogenización, esta solución se filtra empleando gasas y decantación. El tejido que se retuvo en la gasa nuevamente se solubiliza en ácido acético. Finalmente se adiciona la pepsina con una relación en peso de 1:10 (enzima/tejido) y se agita por 24 horas con objeto de que la proteína se desprenda de los aminoácidos terminales para eliminar una posible respuesta inmunológica. Al tratamiento con la enzima se agrega la solución viscosa obtenida un volumen igual de ácido acético con el fin de diluirla para poder tener un mejor manejo de la misma antes de ser centrifugada. Con objeto de retirar la proteína no solubilizada, se centrifuga y únicamente se considera el sobrenadante.

5. Caracterización del colágeno de vejiga natatoria.

Para la caracterización del colágeno obtenido de la vejiga natatoria de pescado se pueden aplicar diferentes técnicas químicas analíticas entre ellas podemos mencionar: la electroforesis, la espectrofotometría UV-VIS, espectrofotometría de masas y calorimetría diferencial de barrido, que se detallan a continuación:

a. Electroforesis.

Es una técnica que fue descrita por primera vez por Laemmli en 1970, la cual se basa en la separación de moléculas gracias a la acción de un campo eléctrico. Las moléculas disueltas se desplazan en un campo eléctrico a una velocidad determinada por su relación carga-masa. Para llevar a cabo la electroforesis se prepara el gel de electroforesis en medio de dos láminas de vidrio y mediante la polimerización de una solución de monómeros de acrilamida en cadena de

poliacrilamida. Para poder determinar el rango del peso molecular de las moléculas se utiliza un marcador de peso molecular. (Castro, 2012).

b. Espectrofotometría UV-VIS.

Díaz et al., (2010), la define como una técnica analítica que permite determinar la concentración de un compuesto en solución basándose en que las moléculas absorben las radiaciones electromagnéticas. Entonces Owen, (2000), indica que la cantidad de luz absorbida se expresa como transmitancia o absorbancia, normalmente se da en términos de una fracción de 1 ó como porcentaje. La espectroscopia UV-visible suele utilizarse para determinar muchas características físico-químicas de los compuestos y, por tanto, puede proporcionar información como la identidad. El fundamento de la espectroscopía se basa en la capacidad de las moléculas para absorber radiaciones, entre ellas las radiaciones dentro del espectro UV- visible. Las longitudes de onda de las radiaciones que una molécula puede absorber y la eficiencia con la que se absorben dependen de la estructura atómica y de las condiciones del medio (pH, temperatura, fuerza iónica, constante dieléctrica). Las moléculas pueden absorber energía luminosa y almacenarla en forma de energía interna.

Entonces la transmitancia (T) de una sustancia en solución es la relación entre la cantidad de luz transmitida que llega al detector una vez que ha atravesado la muestra y la cantidad de luz que incide sobre ella. Es una medida física de la relación de intensidad incidente y transmitida al pasar por la muestra. La relación entre %T y la concentración no es lineal, pero asume una relación logarítmica inversa. Mientras que la absorbancia (A) nos indica la cantidad de luz absorbida por la misma. Cuando la intensidad incidente y transmitida son iguales, la transmitancia es del 100 % e indica que la muestra no absorbe a una determinada longitud de onda. La cantidad de luz absorbida dependerá de la distancia que atraviesa la luz a través de la solución del cromóforo y de la concentración de éste, (Díaz et al., 2010).

c. Calorimetría diferencial de barrido (DSC).

Es una técnica experimental térmica que permite establecer la cantidad de calor que absorbe o libera una sustancia, cuando es mantenida a temperatura constante, durante un tiempo determinado, o cuando es calentada o enfriada a velocidad constante, en un determinado intervalo de temperaturas. La transmisión de calor es instantánea, por eso se trabaja con muestras muy pequeñas. Las muestras se colocan en cápsulas que deben estar cerradas herméticamente, lo que impide que se produzcan cambios de humedad. Lo que se registra es la diferencia en el flujo de calor que hay que suministrar a la muestra y a la referencia para mantener la misma temperatura en ambas. Si la muestra tiene una capacidad calorífica mayor que la referencia, habrá que suministrarle más calor para mantener las temperaturas: hay una diferencia en el flujo de calor suministrado que es proporcional a la diferencia de capacidades caloríficas de la muestra y de la referencia, (Coello & Gracés, 2012).

d. Espectrofotometría de masas MALDI/TOF.

La espectrometría de masas es una técnica de análisis cualitativo de amplia utilización para la determinación de estructuras orgánicas por sí sola o en combinación con otras técnicas de espectrofotometría. Se basa en la obtención de iones a partir de moléculas orgánicas en fase gaseosa; una vez obtenidos estos iones, se separan de acuerdo con su masa y su carga, y finalmente se detectan por medio de un dispositivo adecuado. Un espectro de masa será, en consecuencia, una información bidimensional que representa un parámetro relacionado con la abundancia de los diferentes tipos de iones en función de la relación masa/carga de cada uno de ellos, (Vargas, 2012).

6. Fuentes de Obtención.

Habitualmente las fuentes de colágeno en la industria se obtiene de la piel y huesos de bovino, porcinos y aves de corral; estas fuentes comunes presentan ciertas

dificultadas y son inapropiados para muchos grupos religiosos y étnicos debido a prohibiciones socio-culturales De la torre, (2013), además los brotes de encefalopatía esponjosa bovina (enfermedad de las vacas locas), la fiebre aftosa y la influenza aviar han llevado a la negatividad de algunos consumidores conscientes de la salud hacia estos productos tradicionales de colágeno, dejándolos de consumir, (Nagai, 2003).

Por lo tanto una alternativa de fuente de colágeno es el pescado que proporciona una gran cantidad de subproductos, ya que respresenta el 50-70 % del peso de la captura y el colágeno obtenido se diferencia por la variedad de especies, influenciado por su hábitad y al medio en cual viven Takeshi & Nobutaka, (1999). Tanto así que se han realizado investigaciones en diversos países, la mayoría de estas tuvo como objetivo describir la preparación de colágeno a partir de piel de especies acuáticas como la trucha, Martínez et al., (2011), y *Coryphaena hippurus* Romero, (2016), tendón de bovino, Gomez et al., (2011), hueso, aletas y las vísceras de pescado están llamando la atención por ser una fuente importante de minerales, proteínas y grasa para su uso en diversos productos, (FAO, 2014).

No obstante, se ha demostrado que el colágeno tipo I y tipo V frecuentemente forman parte del tejido conectivo estos organismos. Sin embargo los estudios no han encontrado en cantidades detectables el tipo III, que en mamíferos es el mayor componente del perimio (células que rodean las células endoteliales de los capilares y vénulas pequeñas). Estos factores sugieren que las especies moleculares del colágeno y su distribución en los organismos acuáticos son diferentes al de los músculos de aves y mamíferos, (Torres et al., 2008).

7. Usos del colágeno en alimentos.

Según Guzman, et. al (2014) dice que las proteínas, lípidos y polisacaridos son algunas de las materias empleadas en la elaboración de películas comestibles, usadas para proporcionar alta calidad y productos alimenticios seguros. Estas

películas comestibles basadas en proteínas (colágeno) y cubiertas poseen mejores propiedades funcionales (mejores propiedades de barrera a los gases) y características nutricionales. El desarrollo de este tipo de películas en productos cárnicos y otros alimentos demuestra la eficacia de las nuevas tecnologías de conservación y se transforma en una herramienta para analizar la aplicabilidad que tienen algunos materiales, en este caso el colágeno hidrolizado, como recubrimientos comestibles.

La industria alimentaria utiliza gelatina ampliamente en la fabricación de postres, dulces, panadería, helados, productos cárnicos, productos lácteos, confitería, así como en productos específicos como mermelada, jalea y productos bajos en grasa. También se usa ampliamente para la modificación de la textura y la vida útil de lácteos, espumas, geles, dispersiones y emulsiones. Las características más notables de la gelatina de colágeno son su resistencia en estado de gel, su solubilidad en agua y la capacidad de formar geles termorreversibles, Yuste, (2015). Por ejemplo la gelatina es una proteína de alta digestibilidad y con numerosas aplicaciones en la industria alimentaria, sus propiedades tecnológicas hacen que se utilice como: clarificante, estabilizante de emulsiones y gelificante, (Martínez, 2012).

Las proteínas e hidrolizados son usados en embutidos por dos razones: para incrementar el contenido proteico del producto terminado y por su capacidad para retener agua. Como proteínas funcionales, las más usadas en la fabricación de jamón cocido son: proteínas de leche (lactosueros, lactoalbúminas, caseinatos), proteínas de sangre (plasma), proteínas de colágeno (colágeno) parcialmente hidrolizado y corteza en polvo), proteínas de huevo, vegetales, e hidrolizados de proteína, (Ortega, 2014).

D. EMBUTIDOS

1. Generalidades.

La industria cárnica tiene antecedentes prehistóricos a comparación de las grandes industrias modernas, apareciendo en la literatura más antigua referencias notables de ciertas prácticas de conservación de la carne que ya eran de conocimiento de muchas personas. Los nativos de América practicaban la disecación de carne, técnicas de ahumado y salazón. El procesamiento de algunos embutidos era común Europa y en la zona de Mediterránea antes de la época de los Césares, (Flores, 2012).

El consumo per cápita de embutidos en España es igual al consumo per cápita de carne de cerdo y res con valores entre 50.4 kg y 11.3 kg respectivamente, seguido por Alemania donde el consumo anual es de 39,7 kg de carne de cerdo y 8,8 kg de carne de res. El consumo de carne en Latinoamérica es en promedio de 18 kg, en Ecuador es de 9 kg, en Uruguay y Paraguay son de 60 kg en adelante, lo mismo Argentina y mucho más en Estados Unidos, (Tereza, 2015).

Los embutidos forman parte de las emulsiones cárnicas que consiste en una matriz de músculo y fibras del tejido conectivo suspendido en un medio acuoso que tiene proteínas solubles y partículas de grasa como se presenta en la Fig. 5, actuando como agentes emulsificantes las proteínas sarcoplasmáticas y las miofibrilares Amerling, (2001). Generalmente los embutidos se obtienen a partir picada o molida, condimentada con hierbas y diferentes especias. Luego es introducida o embutida dentro de una funda, antiguamente se utilizaba tripa de cerdo y en la actualidad a nivel industrial se utilizan fundas de colágeno de origen animal, (Suarez, 2013).

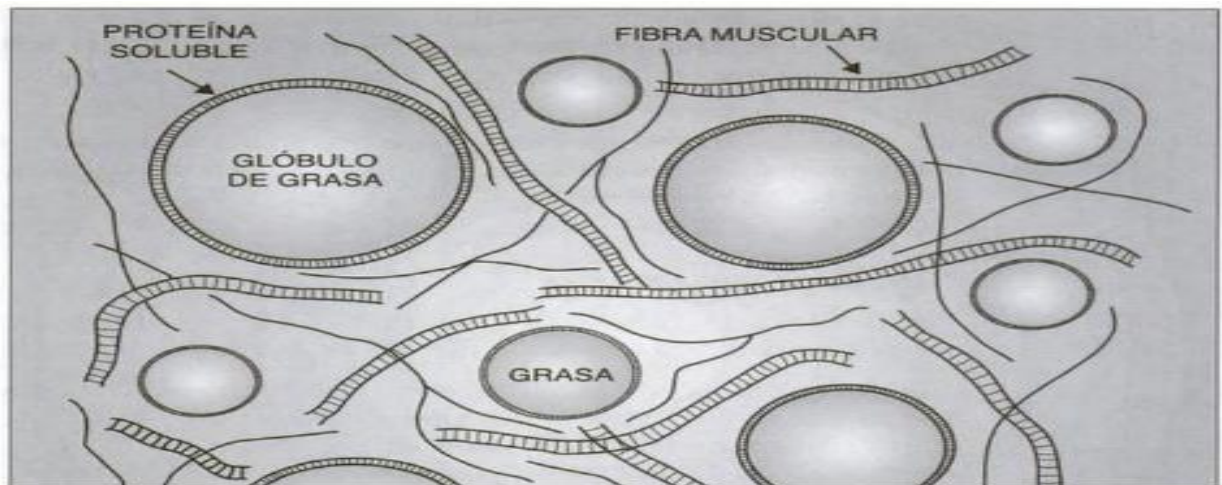


Figura 5. Emulsión cárnica (Amerling, 2001).

Amerling, C. (2001) expresa que existen varias causas que perjudican la formación de las emulsiones cárnicas, como son: temperatura durante la emulsificación, el tamaño de las partículas de grasa, pH, cantidad y tipo de proteínas solubles presentes y viscosidad de la emulsión. Para contrarrestar esto, se agrega hielo a la mezcla para reducir efectos y lograr una temperatura final de emulsión ideal de 0 a 10 °C.

2. Clasificación de los embutidos.

Flores, J. (2012); Amerling, C. (2001), manifiestan que la producción de productos cárnicos se desarrollan teniendo en cuenta el tipo de embutidos que se requiere, por cual se clasifican en:

a. **Embutidos crudos**

Los embutidos crudos son el resultado de la mezcla de carne cruda, grasa de cerdo, con adición sal común, sustancias curantes, condimentos y algunos aditivos y coadyuvantes para el curado introducida en una tripa (artificial o natural) para proporcionarle forma, aumentar la consistencia y poder someter al embutido a

tratamientos. Estos embutidos pueden consumirse fresco o cocinado posterior a una maduración, según la capacidad de maduración los embutidos crudos se pueden clasificar en embutidos de larga, media y corta duración. Durante el proceso de elaboración hay que tener en cuenta diverso factores que garanticen la calidad del producto:

- La calidad de la carne y grasa, así como la sal y las especias.
- La composición bacteriana de las materias iniciales y el posterior desarrollo de los gérmenes.
- Las influencias ambientales sobre todo macroclima y microclima.

b. Embutidos cocidos

Los embutidos cocidos son todos aquellos que se elaboran a partir de carne y grasa de cerdo, vísceras, sangre, despojos; las mismas que deben ser cocidas previamente. A diferencia de los embutidos escaldados los embutidos cocidos presentan una consistencia firme en frío y si se calienta se rompe en diversas fracciones. Algunos de ellos son: Paté de hígado, queso de chanco y morcilla.

c. Embutidos escaldados

Este tipo de embutidos se elabora a partir de carne fresca, no completamente madura ya que incrementa el poder aglutinante porque las proteínas se desprenden con facilidad y sirven como ligante. El producto final se somete a un tratamiento térmico (escaldado), que consiste en introducir el embutido en agua caliente a 75 °C durante un tiempo que depende del tamaño del embutido, con la finalidad de disminuir el contenido de microorganismos, favorecer la conservación y de coagular las proteínas de manera que se forme una masa consistente. Entre algunos embutidos escaldados tenemos: mortadela, salami cocido, salchicha tipo Frankfurt.

(1). Salchicha Viena

Según el Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN–1217, (2006), define a la salchicha como un producto cárnico de una masa emulsificada (pasta fina) preparada con carne seleccionada de animales de abasto, determinados ingredientes y aditivos permitidos, las mismas que introducen en tripa ya sea artificial o natural. Se considera un embutido escaldado de consistencia suave, elevada humedad y duración media. En la actualidad se elaboran más de 1500 tipos de salchichas que se ofertan en el mercado, (Palacios, 2010).

Comúnmente la salchicha Viena o Frankfurt se elabora a partir de la carne de cerdo y carne de res porque proporciona un color entre rosa claro y rojo mate o color rojo claro e intensos a la masa respectivamente. El tratamiento térmico que se aplica es para darle a una estructura firme y elástica, posteriormente se ahúma para darle un sabor característico al embutido, (Sánchez, et. al, 2016).

3. Legislación.

La INEN-1338, (2012), establece los requisitos microbiológicos que deben cumplir los productos cárnicos cocidos presentes en la tabla 3, los resultados de análisis deben expresarse como un valor acompañado de su incertidumbre analítica por medio de cálculos estadísticamente aceptables.

Tabla 3. REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS PARA EMBUTIDOS COCIDOS.

Requisitos	n	c	m	M	Método de Ensayo
Aerobios mesófilos, * ufc/g	5	1	$5,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^7$	NTE
<i>Escherichia coli</i> ufc/g *	5	0	< 10	-	INEN 1529-5
<i>Staphylococcus aureus</i> , ufc/g *	5	1	$1,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^4$	AOAC
<i>Salmonella</i> ¹ /25g **	10	0	Ausencia		991.14

1 especies cero tipificadas como peligrosas para humanos

* Requisitos para determinar término de vida útil

** Requisitos para determinar inocuidad del producto

Fuente: INEN 1338, (2012).

Donde:

n = número de unidades de la muestra

c = número de unidades defectuosas que se acepta

m = nivel de aceptación

M = nivel de rechazo

La INEN - 2074, (2012), dice que el uso de aditivos alimentarios está justificado únicamente si ello ofrece alguna ventaja, no presenta riesgos apreciables para la salud de los consumidores, no induce a error a éstos, y cumple una o más de las funciones tecnológicas establecidas por el Codex y los requisitos que se indican a continuación:

- Conservar la calidad nutricional del alimento.
- Proporcionar los ingredientes o constituyentes necesarios para los alimentos fabricados para grupos de consumidores que tienen necesidades dietéticas especiales.
- Aumentar la calidad de conservación o la estabilidad de un alimento o mejorar sus propiedades organolépticas, a condición de que ello no altere la naturaleza, sustancia o calidad del alimento de forma que engañe al consumidor.
- Ayudar en la fabricación, elaboración, preparación, tratamiento, envasado, transporte o almacenamiento del alimento, a condición de que el aditivo no se utilice para encubrir los efectos del empleo de materias primas defectuosas o de prácticas (incluidas las no higiénicas) o técnicas indeseables durante el curso de cualquiera de estas operaciones.

Para la elaboración de productos alimenticios, como los embutidos, también nos basamos en la normativa técnica sanitaria unificada para alimentos procesados, plantas procesadoras de alimentos, establecimientos de distribución, comercialización, transporte de alimentos y establecimientos de alimentación colectiva. Con el único objetivo de establecer las condiciones higiénico sanitarias y requisitos que deberán cumplir los procesos de fabricación, producción, elaboración, preparación, envasado, empaque transporte y comercialización de alimentos para consumo humano, con el objeto de proteger la salud de la población, garantizar el suministro de productos sanos e inocuos, (ARCSA, 2016).

4. Ingredientes Cárnicos

Los productos cárnicos se elaboran a base de carne, principalmente de origen de cerdo y res. En la actualidad hay estudios en los que se utiliza mariscos como materia prima para la elaboración de productos cárnicos, (Cajiao & Jaramillo, 2006). A continuación se detallan algunos de ellos:

a. Camarón

El camarón es una especie de crustáceos del orden de los decápodos. Su cultivo se realiza en agua salada o dulce, así como en regiones templadas, tropicales o frías y gélidas; los lugares en donde se cultivan pueden ser deltas, estuarios o lagunas que tienen fondos generalmente fangosos, fango-arenosos o arenosos ricos en materia orgánica. Aparentan ser transparentes, de color rosado o castaño, se distinguen por poseer dos pares de quelas y una marcada inclinación en el abdomen, cuyo segmento se solapa con los adyacentes, (Ortega, 2014).

Ecuador tiene principalmente camarones de aguas tropicales, como el camarón blanco del Pacífico de la especie *Litopenaeus vannamei*, que es la más resistente a

cambios de salinidad. Especies como el *Litopenaeus occidentalis*, *Litopenaeus californiensis* y *Litopenaeus monodon* se cultivan en menores cantidades. Actualmente el camarón es el segundo producto no petrolero de mayor exportación después del banano, (Instituto Nacional de Pesca INP, 2006).

Este crustáceo ocupa una posición relevante en el mercado internacional. Una de ellas se debe a que el camarón es de algún modo diferente a otros mariscos, porque su carne no tiene espinas ni huesos. Otra razón es su popularidad, por la amplia distribución que tiene, ya que después de ser congelados pueden transportarse fácilmente a cualquier parte del mundo; pero la verdadera causa de fama de los camarones, especialmente entre los consumidores es porque a diferencia de los peces, su cocción es rápida y fácil, (Ortega, 2014).

(1). Camarón *Litopenaeus occidentalis*.

Conocido en Ecuador como camarón blanco, en cuanto al aspecto nutricional el camarón es un alimento importante porque contiene yodo, vitamina B12, colesterol, vitamina E, selenio, proteínas y agua. Los nutrientes restantes presentes en este alimento, están ordenados por importancia de su presencia: fósforo, potasio, zinc, calcio, sodio, magnesio, vitamina B3, hierro, calorías, vitamina B2, vitamina B9, vitamina B, vitamina B6, hidratos de carbono, grasa, ácidos grasos poliinsaturados, ácidos grasos monoinsaturados y ácidos grasos saturados, (ProEcuador, 2012). El camarón es también una buena fuente de ácidos grasos omega-3, que reducen el riesgo de problemas cardiovasculares al disminuir el colesterol en la sangre, (Viquez, 2013). La taxonomía del camarón blanco se indica en la Tabla 4.

Tabla 4. TAXONOMÍA DEL CAMARÓN BLANCO

Reino:	Animalia
Filo:	Arthropoda
Subfilo:	Crustacea
Clase:	Malacostraca

Orden:	Decapoda
Suborden:	Dendrobranchiata
Familia:	Penaeidae
Género:	Litopenaeus
Especie:	L. occidentalis

Fuente: (Departamento de Zoología Instituto de Biología (IBUNAM)., 2015)

b. Pescado

El pescado *Makaira mazara*, su nombre común es “Picudo blanco o marlín azul” y su clasificación taxonómica se encuentra en la tabla 5. Es una especie de peces grandes pelágicos oceánicos. Presenta un cuerpo robusto, alargado, ligeramente comprimido en la sección transversal oval; mandíbula superior prolongada en un pico robusto; dos aletas dorsales, la primera con 40 a 44 radios y baja posteriormente, la segunda pequeña de 26 radios, dos aletas anales separadas la primera con 12 a 15 y la segunda con 6 a 7 radios. Los valores del análisis proximal del pescado picudo blanco son: proteína 20,3 %, grasa 0,3 % y humedad 77,4 % (Castelo, 2001).

Tabla 5. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL DORADO.

Reino :	Animal
Familia :	Xiphiidae
Orden :	Peciformes
Clase :	Actinopterygii

Fuente: (Castelo, 2001).

Para asegurar la calidad de la materia prima debemos verificar que el pescado fresco sea brillante, que conserve su coloración normal con tintes fuertes. La carne debe ser consistente y elástica, debe oponer resistencia a la presión y no dejar huellas. La parte del abdomen no debe hallarse abultada en los peces no eviscerados; la abertura anal debe estar bien cerrada. Otros aspectos importante son los ojos, estos

deben presentarse claros, transparentes, brillantes y llenar completamente la órbita y las branquias deben tener coloración roja más o menos intensa, brillantes, sin mucosidades y ligeramente húmedas, (Choez & Martínez, 2015).

5. Ingredientes no Cárnicos.

Para obtener un producto cárnico de calidad depende de la materia prima y aditivos que se utilicen en su elaboración. Dentro de los aditivos no cárnicos se encuentran:

a. Colágeno

Es un aditivo que ayuda a retener y ligar agua, así como estabilizar grasa. Disminuye la pérdida por humedad durante el cocimiento según el proceso. Evita o disminuye la sinéresis (la presencia de líquido libre) en el producto final. Posee un alto contenido de proteína, por lo que mejora el contenido proteico en el producto final, debido a su poder gelificante, (Charry, 2011).

b. Fosfatos

Los polifosfatos solubilizan las proteínas al disociar el complejo de actinomisina, por lo cual ayudan a la formación de la emulsión al ligarse el agua y la grasa, Trovar, (2003). También es importante porque disminuye la pérdida de proteínas durante la cocción al retener agua. El color y el sabor mejoran mediante el uso de este aditivo ya que el color se estabiliza en presencia de fosfatos porque mantienen el pH del producto, mientras que en el sabor es mejor porque retiene las características de proteínas y previene la oxidación de las grasas. Se recomienda usar 3 g/kg de carne, (Amerling, 2001).

c. Nitrito o Nitratos

El uso de nitritos y nitratos en la elaboración de productos cárnicos es por su función inhibidora de microorganismos especialmente de *Clostridium botulinum*, productor de una toxina de alta peligrosidad. Además proporciona una fijación del color (los nitritos se descomponen en óxido nitroso, que reacciona con el pigmento hemoglobina formando la nitroso-mioglobina dando el color), contribuyendo al desarrollo del aroma y sabor característico de los productos. Estos aditivos son productos de uso de alta peligrosidad para la salud, por ser precursores de las nitrosaminas cancerígenas; por lo cual se recomienda usar concentraciones de 15 mg NaNO_3 /100 g de carne y 500-200 mg NaNO_2 /kg de carne, (Sánchez & Vásquez, 2016).

d. Especies

Las especias y condimentos son sustancias aromáticas de origen vegetal, las cuales se adicionan a los productos cárnicos para acentuar los aromas propios de la carne y para otorgar aromas y sabores característicos. Los más comúnmente utilizados son: cebolla, ajo, pimienta blanca, pimienta negra, pimentón, laurel, jengibre, canela, clavos de olor, comino, mejorana, perejil, nuez moscada y tomillo. Actualmente, además de las especias naturales deshidratadas, se utilizan aceites esenciales y oleoresinoides, (Palacios, 2010).

e. Sal

Tiene la función de proporcionar sabor al producto, actuar como conservante, ayudar en la solubilización de las proteínas y aumentar la capacidad de retención de agua Guamán, (2011), y en la expansión de sus estructuras cuaternarias, ya que supone el principal aporte a la fuerza iónica del producto, debilitando las uniones electrostáticas existentes entre los grupos $-\text{COO}-$ y $-\text{NH}_4^+$ contribuyendo, a la ligazón entre los músculos en el producto terminado, Freixanet, (2006). A pesar de estas características favorables durante la elaboración de los embutidos, la sal puede convertirse en un elemento indeseable ya que favorece el enranciamiento de las grasas, (Lema, 2010).

f. Grasa

En los últimos años se ha divulgado que la grasa en los productos cárnicos es dañina, pero esta tiene algunos beneficios. Contribuye a la jugosidad y suavidad de los embutidos Rosero, (2015). La interacción producida entre las gotas de grasa y la red proteica parece ser uno de los principales factores que interviene en la textura de las salchichas, por lo que esta se verá deteriorada en salchichas con bajo contenido de grasa, (García et al., 2015).

g. Hielo

Ayuda a disolver la sal y demás ingredientes de los diferentes productos. El agua a usar debe ser potable y se utiliza en forma líquida o en escarcha. Se usa con el fin de empezar a emulsificar las grasas y permitir que no empiezan un proceso de descomposición, (Rodríguez, 2013).

III. MATERIALES Y MÉTODOS.**A. LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO.****1. Localización.**

La presente investigación se desarrollará en el Laboratorio de Bromatología, Laboratorio de Alimentos y Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Animal de la Facultad de Ciencias Pecuarias y en el Laboratorio de la Facultad de Ciencias

Químicas de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, ubicada en el Km 1 ½ de la panamericana Sur en el Cantón Riobamba, Provincia de Chimborazo.

2. Condiciones Meteorológicas.

La Escuela Superior Politécnica de Chimborazo está ubicada en la Provincia de Chimborazo, ciudad de Riobamba con las condiciones meteorológicas que se presentan en la tabla 6.

Tabla 6. CONDICIONES METEOROLÓGICAS.

Parámetro	Valores
Temperatura promedio, °C	13.50
Humedad relativa, %	60.50
Precipitación, mm/año	360

Fuente: Estación Agrometeorológica, FRN-ESPOCH. (2017).

3. Duración.

El presente trabajo de campo tendrá una duración de 120 días.

B. UNIDADES EXPERIMENTALES.

Se evaluará el efecto de diferentes niveles de colágeno (2 %, 4 %, 6 %), extraído de la vejiga natatoria del bagre (*Bagre panamensis*); con el fin de mejorar la textura en la salchicha de mariscos. Para esto se contará con 3 tratamientos experimentales, cada uno de ellos con 4 repeticiones distribuidos bajo un diseño completamente al azar y que para su análisis se ajusta al modelo lineal indicado en el esquema del experimento.

C. MATERIALES, EQUIPOS E INSTALACIONES

1. Para el colágeno

a. Materiales y reactivos para determinar proteínas.

(1) Materiales.

- Unidad de digestión y destilación Kjeldahl.
- Balón Kjeldahl de 1000 ml.
- Matraces Erlenmayer de 250 ml.
- Perlas de ebullición.
- Probeta 25 ml.

(2) Reactivos.

- Sulfato de cobre.
- Sulfato de sodio.
- Ácido sulfúrico concentrado.
- Solución de hidróxido de sodio al 50 %.
- Solución de ácido bórico al 2.5 %.
- Indicador mixto.
- Solución estándar de ácido clorhídrico 0.1 N.

b. Materiales y equipos para determinar humedad.

(1) Materiales.

- Crisol porcelana con tapa .
- Pinzas.
- Espátula.

(2) Equipos.

- Desecador.
- Estufa (KOTTERMANN 2711).
- Balanza analítica.

c. Materiales y equipos para determinar minerales totales o cenizas.

(1) Materiales.

- Crisol de porcelana, con tapa de cierre hermético.
- Pinzas.

(2) Equipos.

- Mufla (Thermo SCIENTIFIC, Lindberg/Blue M, Model BF51731C-1).
- Desecador.
- Balanza analítica (OHAUS, AR2140).
- Cocineta para precalcinación.

d. Materiales y equipos para determinar pH.

(1) Materiales.

- Agua destilada.
- Buffer pH 7.0.
- Vasos de precipitación.
- Pipetas.
- Piseta.

(2) Equipos.

- Potenciómetro.

e. Materiales y equipos para determinar CRA.

(1) Materiales.

- Tubos de ensayo con tapón.
- Agua destilada.

(2) Equipos.

- Centrífuga (IEC, Modelo MP4).
- Agitador magnético (VORTEX JR. MIXER, MODEL K-500-J).
- Balanza analítica (OHAUS, AR2140).
- Estufa (KOTTERMANN 2711).

f. Materiales y equipos para determinar la capacidad de emulsificación (CE).

(1) Materiales.

- Agua destilada.
- Aceite vegetal puro de romero.

(2) Equipos.

- Balanza (OHAUS, Modelo Traveler TA1501).
- Agitador magnético (VORTEX JR. MIXER, MODEL K-500-J).

g. Materiales, reactivos y equipos para determinar el contenido de hidroxiprolina.

(1) Materiales.

- Balones aforados 50 ml.
- Tubos de ensayo con tapón.
- Gradilla metálica.
- Micropipetas 500 µl y 1000 µl y puntas para micropipetas
- Papel filtro.
- Vasos de precipitación.

- Pipeta 10 ml.

(2) Reactivos.

- HClO₄.
- NaOH 1 N.
- Solución cloramina T.
- Reactivo Erlich (p-dimetilamino benzaldehído)
- Solución Tampón A.
- Solución estándar de 4- L- Hpro.

(3) Equipos.

- Baño maría (MEMMERT, Modelo WB22).
- Espectrofotómetro (PERKIN ELMER, Modelo EZ201).
- Estufa (KOTTERMANN 2711).

2. Para la salchicha

a. Grasa o extracto etéreo

(1) Materiales.

- Equipo de extracción Soxhlet.
- Papel filtro
- Hornilla
- Vasos para grasa
- Equipo de destilación

- Estufa (KOTTERMANN 2711).

(2) Reactivos.

- Éter Etílico.

b. Materiales y equipos para determinar pH

(3) Materiales.

- Agua destilada.
- Buffer pH 7.0.
- Vasos de precipitación.

(4) Equipos.

- Potenciómetro (OAKTON-54X002608C).

c. Materiales y equipos para determinar CRA.

(1) Materiales.

- Papel filtro.
- Peso 5000 g.
- Muestra 5 g.
- Pinzas.

(2) Equipos.

- Balanza analítica (OHAUS, AR2140).

d. Materiales y equipos para determinar CE.

(1) Materiales.

- Buretas.

- Aceite vegetal puro.
- Solución de NaCl 1 M.
- Tubos de ensayo.
- Pipetas.

e. Materiales para perfil sensorial de la salchicha.

- Agua.
- Vasos.
- Platos.
- Muestras correctamente identificadas.
- Sala de catación.
- Panel de catadores.
- Hoja maestra.

3. Materiales y equipos para análisis microbiológico tanto en el colágeno como la salchicha.

(1) Materiales.

- Placas petrifilm de Coliformes totales.
- Placas petrifilm de Levaduras y mohos.
- Pipetas y dispersador.

(2) Equipos.

- Estufa (KOTTERMANN 2711).
- Cuenta colonias.
- Cámara de flujo laminar.
- Agitador magnético (VORTEX JR. MIXER, MODEL K-500-J).

4. Instalaciones.

- Laboratorio de Bromatología y Nutrición Animal la Facultad de Ciencias Pecuarias.
- Laboratorio de Alimentos de la Facultad de Ciencias Pecuarias.
- Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Animal de la Facultad de Ciencias Pecuarias.
- Laboratorio de Química Analítica e Instrumental, de la Facultad de Ciencias.
- Planta de cárnicos de la facultad de Ciencias Pecuarias.

D. TRATAMIENTO Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Se evaluará el efecto de diferentes niveles de colágeno (2 %, 4 %, 6 %), extraído de la vejiga natatoria del bagre (*B. panamensis*); con el fin de mejorar la textura en la salchicha de mariscos. Para esto se contará con 3 tratamientos experimentales, cada uno de ellos con 4 repeticiones distribuidos bajo un diseño completamente al azar y que para su análisis se ajusta al modelo lineal bajo el siguiente modelo matemático:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij}	Variable experimental
μ	Media general
T_i	Efecto del tratamiento
ε_{ij}	Efecto del error experimental

1. Esquema del experimento

El esquema del experimento se plantea de la siguiente manera como se detalla en la siguiente Tabla 7:

Tabla 7. ESQUEMA DEL EXPERIMENTO.

Niveles	Código	T.U.E (Kg)	Repeticiones	Total (trat/rep)
---------	--------	---------------	--------------	---------------------

0%	NO	4	4	16
2%	N1	4	4	16
4%	N2	4	4	16
6%	N3	4	4	16
Total				64

T.U.E: Tamaño de unidad experimental, 4Kg.

E. MEDICIONES EXPERIMENTALES

Las variables experimentales que se evaluarán serán las siguientes:

Para el colágeno extraído:

1. Físico-químicos.

- Minerales%
- Proteína%
- Humedad%
- pH
- Capacidad de retención de agua
- Capacidad de Emulsificación
- Conductividad
- Contenido de hidroxiprolina

2. Análisis sensorial.

- Apariencia
- Olor
- Color

3. Análisis microbiológico.

- Coliformes totales UFC/g.
- Levaduras y mohos UFC/g.

Para la salchicha de mariscos:

1. Análisis físico-químico

- Proteína%
- Humedad%
- Minerales%
- Grasa%
- Extracto libre de nitrógeno%
- pH
- Capacidad de retención de agua
- Capacidad de Emulsificación pH
- Capacidad de retención de agua

2. Análisis sensorial.

- Textura
- Color
- Olor
- Sabor

3. Análisis microbiológico.

- Coliformes totales UFC/g.
- Levaduras y mohos UFC/g

F. ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA

Los resultados experimentales serán sometidos a los siguientes procedimientos estadísticos:

- Análisis de varianza (ADEVA), a un nivel de significancia $P < 0,05$ y $P < 0,01$; en las variables fisicoquímicos.
- Para la diferencia de medias se realizó la prueba de separación de medias según Tukey ($P < 0,05$).
- Análisis de correlación y regresión lineal y no lineal.

1. **Esquema del ADEVA.**

El esquema de análisis de varianza que se utilizará para el desarrollo de la presente investigación se detalla a continuación en la Tabla 8.

Tabla 8. ANÁLISIS DE LA VARIANZA (ADEVA).

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	15
Entre método	3
Error	12

Fuente: Salguero & Vargas (2017).

G. **PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.**

1. **Extracción de Colágeno.**

Primero se investigó un método de extracción utilizando vejigas natatorias secas las cuales se procedieron a humectar por un tiempo de 12 horas posteriormente se sumergieron en una solución de NaOH al 10 %, pero como las vejigas no lograron la humectación necesaria para continuar con los procesos se procedió a estudiar otro método. En el segundo método aplicado se trabajó con vejigas natatorias frescas a

las cuales se les añadió una solución de NaOH al 5 % por un tiempo de 4 horas, pero este método no fue eficaz ya que en ese tiempo las vejigas natatorias se desintegraron totalmente. Finalmente se aplicó otro método que se detalla a continuación:

a. Recepción, desinfección y desengrasado de materia prima.

Se obtuvo la materia prima del mercado la Condamine de la Ciudad de Riobamba. Luego se lavó las vejigas para retirar la materia grasa y sangre, pesar antes y después del lavado la materia prima. Las vejigas seleccionadas para la extracción de colágeno se obtuvieron de 4 días, para cada día se escogió dos muestras de 200 g cada una. Cada muestra se sumergió en una solución de hipoclorito de sodio al 1 % por 10 minutos para desinfectar y eliminar olores, se enjuagó con abundante agua destilada. Seguidamente se añadió alcohol butílico al 10 % con el fin de eliminar grasa y olores, por 30 minutos. Finalmente se midió pH y enjuagó con agua destilada.

b. Medio básico.

Para lograr el ablandamiento de las vejigas natatorias, retirar el material no colagenoso y excluir el efecto de las proteasas endógenas se sumergió en hidróxido de sodio al 3 % por 4 horas, se enjuagó con agua destilada.

c. Medio ácido.

A continuación a la muestra se le añadió una solución de ácido acético al 3 % de 2 a 3 horas, para convertir al colágeno a un estado parcial o totalmente soluble para una futura transformación a hidrolizados mediante el uso de métodos enzimáticos. Cuando la muestra presento una apariencia blanca y gelatinosa se lavó y homogenizó la muestra con la ayuda de una licuadora.

d. Medio enzimático.

Se pesó la muestra homogenizada y se colocó en fundas de digestión, para ser llevadas al DAYSI, el cual simula los movimientos peristálticos de los rumiantes y la enzima desdoble la proteína, por 18 horas. Previamente a la muestra se le añadió una solución de pepsina al 1 % con CH_3COOH al 2 %, hasta que esta quedó totalmente cubierta. Medir pH.

e. Liofilización y almacenamiento.

El colágeno obtenido en forma líquida se envasó en recipientes de plástico estériles e identificados, posteriormente las muestras se llevaron a congelación a una temperatura de $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Finalmente se liofilizó, para el eliminar el agua del colágeno y obtener un producto puro y de fácil manipulación. Realizar los análisis respectivos.

1. Elaboración de salchicha de mariscos con niveles de colágeno.

a. Programa sanitario.

Limpieza y desinfección de las instalaciones, materiales y equipos a emplearse en todo el proceso, para el lavado se realizó con detergente comercial y la desinfección con la solución de hipoclorito de sodio con el fin de prevenir la presencia de algún agente patógeno en ambas instalaciones, en la Planta de Cárnicos de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la ESPOCH.

b. Recepción, control de calidad y pesaje de la materia prima.

El pescado (picudo) empleado fue obtenido del Mercado la Caraguay de la ciudad de Guayaquil y Camarón *Litopenaeus occidentalis* (camarón blanco) se obtuvo del mercado la Condamine de la ciudad de Riobamba. Se transportó en un cooler con hielo. El momento de la adquisición se verificó el olor, color y dureza de cada producto. Se pesó los productos antes y después de lavarlos.

c. Cortado.

El pescado, camarón y grasa se cortaron en trozos de aproximadamente 3 cm por 3 cm, con el fin de uniformizar la materia prima para facilitar la introducción de los mismos en el molino.

d. Molido.

El pescado, camarón y grasa pasaron a través de un molino que consta de un tornillo sin fin, de un disco cuyos orificios tienen un diámetro de 3 mm. Y un cuchillo a cuatro cortes.

e. Cuteado.

Tanto el pescado, camarón y grasa se colocaron en el cutter, a medida que se va convirtiendo en pasta se agregó los ingredientes, siendo variable el ingreso de los mismos. La adición de los ingredientes durante la emulsión se realiza de la siguiente manera: masa, sal más nitritos, hielo, fosfatos, eritorbato, hielo y condimentos. El colágeno se adicionó de acuerdo a la formulación que se presenta en la tabla 9.

Tabla 9. FORMULACIÓN DE LA SALCHICHA DE MARISCOS.

Producto	T0	T1	T2	T3
Pescado	55	55	55	55
Camarón	20	20	20	20
Grasa	10	10	10	10
Fécula de papá	5	5	5	5
Hielo	10	10	10	10
Colágeno	0	2	4	6

Sal	2	2	2	2
Fosfato	0,5	0,5	0,5	0,5
Eritorbato	0,1	0,1	0,1	0,1
Nitritos y nitratos	0,05	0,05	0,05	0,05
Pimienta	0,03	0,03	0,03	0,03
Cebolla	0,5	0,5	0,5	0,5
Ajo molido	0,5	0,5	0,5	0,5
Condimento	0,1	0,1	0,1	0,1
Orégano	0,05	0,05	0,05	0,05

Fuente: (Zurita, 2017).

f. Embutido y cocido.

En el embutido se utilizó una embutidora al vacío en fundas tripas sintéticas. Se coció el producto en una olla marmita, controlando que la temperatura del agua sea de 75 °C hasta que la salchicha adquiriera internamente 68 °C.

g. Enfriamiento y almacenamiento.

Después del cocido se sumergieron inmediatamente las salchichas en agua fría. Se procedió a almacenar en refrigeración para sus posteriores análisis.

H. METODOLOGÍA DE LA EVALUACIÓN.

Se determinaran mediante los siguientes parámetros que analizaran el colágeno obtenido de la vejiga natatoria del bagre y de la salchicha de mariscos.

Para el colágeno extraído:

1. Análisis Bromatológico

a. Análisis Proximal**(1) Cenizas%.**

El método para determinar minerales totales o cenizas se basa en, (INEN 1954, 2012).

- Se precalcinó la muestra de crisol a llama moderada en el quemador hasta que la muestra de ensayo cese el abultamiento o hinchamiento de la misma, indicando esto que ha sido reducida a carbón.
- Se llevó el crisol con la materia carbonizada a la mufla e incineró a una temperatura de 550 °C por 4 horas, hasta que se obtuvo cenizas de color blanco grisáceo característico y la masa constante. Se enfrió en el desecador hasta temperatura ambiente e inmediatamente se pesó.

(2) Proteína%.

El análisis se efectuó mediante el método de Kjeldahl propuesto por, (AOAC, 2005). Se realizó el siguiente procedimiento:

- Se pesó con precisión 1 a 2 g de muestra y se colocó en el balón Kjeldahl; agregando 10 g de catalizador (sulfato de cobre + sulfato de sodio) y 25 ml de ácido sulfúrico concentrado.
- Se colocó el balón en el digestor en un ángulo inclinado y caliente a ebullición hasta que la solución se vea verde esmeralda. Se dejó enfriar.
- Se adicionó 400 ml de agua destilada, perlas de ebullición (granallas de zinc), 120 ml de hidróxido de sodio al 50 %. Se conectó rápidamente el balón a la unidad de destilación, caliente y colecte en un matraz que contiene 100 ml de ácido bórico al 2,5 %.
- Al destilado se añadió 2 o 3 gotas de indicador (verde de bromocresol + rojo de metilo) seguidamente se tituló con la solución estándar de ácido clorhídrico a 0,1 N.

(3) Humedad%

El método se basó en el secado de una muestra en un horno y su determinación por diferencia de peso entre el material seco y húmedo, según, (INEN 1953, 2012), nos muestra el siguiente procedimiento:

- Se pesó el crisol previamente tarada, con aproximación de 1 a 2 g de muestra bien mezclada. Anote la masa del crisol y de la muestra de ensayo.
- Se dejó secar por 12 horas a 105 °C en la estufa. Durante ese tiempo no se abrió la puerta de la misma. Se retiró el crisol de la estufa, cubrir con la tapa, enfriar en el desecador y pesar.

b. Análisis Complementario.

(1) pH.

Para la determinación de pH, se utilizó el procedimiento descrito por, (INEN 820, 1982).

- Se preparó una solución al 1 %, en agua destilada.
- Se colocó aproximadamente 20 ml de la solución preparada en un vaso de precipitación perfectamente limpio.
- Se introdujo los electrodos del potenciómetro (previamente calibrado) en la solución.
- Se realizó la lectura en la escala de pH en forma inmediata.

(2) Conductividad

Se utilizó equipos que miden la conductividad eléctrica simplificando completamente el procedimiento, los cuales son llamados conductivímetros, estos instrumentos constan de un electrodo y un display en donde aparece el resultado de medición.

(3) Capacidad de retención de agua (CRA).

Se pesó un 1 g de muestra previamente filtrada y se colocó en un tubo de ensayo, se adicionó 10 ml de agua destilada, se agita y se dejó en reposo por 18 horas. Después de este tiempo se centrifugó a 3000 rpm por 20 minutos. Luego se pesó el centrifugado para posteriormente llevarlo a secar a la estufa de 105 °C por 12 horas y nuevamente a pesaje. La capacidad de retención de agua se expresa como la cantidad de agua retenida por gramo de muestra seca, (Peralta et al., 2012).

(4) Emulsificación

Se determinó la emulsificación de acuerdo con Peralta et al., (2012), tomando 1 g de muestra, que se diluyó en 10 ml de agua destilada. Estas soluciones proteicas se agitaron durante 10 segundos, posteriormente, se adicionó aceite puro de romero y se emulsionó durante 120 segundos. La actividad emulsificante se calcula por medio de la ecuación 1:

%Emulsificación= (Volumen inicial de la emulsificación/ Volumen final de la emulsificación) *100

(5) Contenido de hidroxiprolina.

La determinación del contenido hidroxiprolina se realizó de acuerdo al método de Woessner,J (1961).

➤ Determinación de Colágeno Total

1. Se pesó 0,3 g de muestra liofilizada.
2. Se añadió 7 ml de HClO₄ (ácido perclórico) al 70 %. Se introdujo en un baño maría a 100 °C durante 4 horas.
3. Se enfrió y trasvasó a matraces de 50 ml. Se enrasó con agua destilada.

4. Se filtró unos 10 ml con papel filtros y embudos a tubos de cristal y se tomó una muestra de a 5 ml en otro tubo de cristal.
5. Se añadió 0,5 ml de NaHO 1,8 N y agitó.
6. Se añadió 0,5 ml de Tampón A y agitó.
7. Se añadió 0,5 ml de cloramida T, se agitó y dejó actuar 4 minutos.
8. Se añadió 1,5 ml de HClO_4 1,8 N y agitó.
9. Se añadió 1 ml de pDBA (paradimetilamino benzaldehído). Se llevó a baño maría a 60 °C por 20 minutos.
10. Se leyó la densidad óptica de cada tubo a una absorbancia de 560 nm en el espectrofotómetro, ajustando a cero con un tubo de testigo.

➤ **Patrón Estable de HPRO (Solución Ácida).**

1. Se tomó 0,1 g 4-L-Hpro y se añadió agua destilada.
2. Se acidificó la muestra con 0,5 ml de HClO_4 1,8 N y se enrasó con agua destilada hasta 500 ml. Obtuvimos una solución madre de 1 mg/ml.
3. Se realizó el patrón. En matraces de 50 ml, se añadió de la solución madre: (0,05 ml, 0,1ml, 0,15 ml, 0,25 ml, 0,50 ml, 0,75 ml, 1 ml, 2,5 ml, 3,5 ml) y se enrasó.
4. Se tomó de cada uno de los matraces 0,5 ml y se colocó en tubos. En uno de ellos se añadió 0,5 ml de agua destilada.
5. Trazar la correspondiente curva patrón, colocando en las abscisas la absorbancias y en las ordenadas las concentraciones en microgramos/ml de 4-L-Hpro.

c. Análisis organoléptico

Para determinar la calidad sensorial del colágeno obtenido, se evaluó la apariencia, olor y color; usando el sentido de la vista, tacto y gusto. Las personas a valorar estos aspectos deben tener conocimiento de análisis sensorial para que denominen con

términos correctos las sensaciones percibidas. Para llegar a una conclusión equilibrada de cada aspecto analizado.

d. Análisis microbiológico.

(1) Coliformes totales, coliformes fecales UFC/g

Para Coliformes totales y coliformes fecales UFC/g, se sigue el procedimiento de acuerdo a, (Minnesota Mining and Manufacturing Company 3M, 2000) :

- La determinación de este tipo de bacterias se realizó mediante la utilización de placas petrifilm, una vez adquiridas se almacenaron los paquetes cerrados a una temperatura $<8^{\circ}\text{C}$ ($<46^{\circ}\text{F}$).
- Se preparó una dilución 10^{-3} de la muestra. Se pesó 1 g de la muestra y se agregó 9ml en un tubo de ensayo. Se mezcló y homogenizó la muestra mediante los métodos
- Se colocó la placa petrifilm en una superficie plana y nivelada. Se levantó la película superior. Con la ayuda de una pipeta perpendicular a la Placa Petrifilm, se colocó 1 ml de la muestra en el centro de la película inferior. Luego se bajó con cuidado la película superior para evitar que atrape burbujas de aire. No la deje caer.
- Con el lado liso hacia abajo, se colocó el dispersor en la película superior sobre el inóculo. Seguidamente se presionó suavemente el dispersor para distribuir el inóculo sobre el área circular, antes de que solidifique el gel. No girar ni deslizar el dispersor.
- Después se incubó las placas con la cara hacia arriba en grupos no más de 20 piezas. A una temperatura de 24 horas \pm 2 horas a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ de acuerdo con AOAC método oficial 991.14. Al final las Placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo de lupa con luz.

(2) Levaduras y mohos UFC/g.

Minnesota Mining and Manufacturing Company 3M, (2000), nos indica el método para identificación de levaduras y mohos es similar al proceso mencionado anteriormente y los que se detalla a continuación son aquellos que son diferentes:

- Se preparó una dilución de 1:10 de la muestra. Pese o pipetee la muestra dentro de un contenedor estéril.
- Se incubó las placas cara arriba en grupos de hasta 20 unidades entre 20 °C y 25 °C durante 3-5 días, OAC método oficial 997.02.

Para la salchicha de mariscos:

a. Análisis físico-químico

(1) pH

- Se tomó porciones de distintas partes del producto y homogenizar perfectamente, (INEN 776, 1985).
- Se pesó aproximadamente 10 g de salchicha y se colocó en el vaso de precipitación de 250 ml. Se agregó 90 ml de agua destilada.
- Se Introdujo los electrodos del potenciómetro (previamente calibrado) en la muestra, que debe encontrarse a 20 ± 2 °C y se efectuó la lectura respectiva.

(2) Capacidad de retención de agua.

La capacidad de retención de agua se midió mediante el método de presión en papel de filtro de Grau y Hamm (1957), que se llevó a cabo mediante la colocación de un peso de 5000 g sobre 5 g de muestra picada. La capacidad de retención de agua se calculó como porcentaje de agua desprendida, $[(\text{peso agua/peso muestra}) \times 100]$. Se utilizó el valor medio de dos repeticiones de cada medida, (González, Camacho, & Alcalde, 2007).

(3) Emulsificación.

Se homogenizó 25 g de la muestra con 100 ml de solución fría de NaCl 1 M. Se tomó 12.5 g del homogenizado y se añadió 37.5 ml de solución fría de NaCl 1 M, se mezcló por 3 minutos a baja velocidad. Sin apagar la licuadora o el homogenizador, se añadió 5 ml de aceite y se esperó a que se forme la emulsión. Con ayuda de una bureta y sin detener el mezclado, se adicionó en forma continua más aceite hasta la ruptura de la emulsión. Se realizó esta determinación por duplicado y se reportó la cantidad de aceite emulsionado (hasta la ruptura de la emulsión) por g de muestra, (Pérez & Ponce, 2013).

b. Análisis organoléptico.

(1) Perfil sensorial.

Manrique et al., (2010), expresa que el perfil sensorial consiste en la descripción y medición de las propiedades sensoriales de la salchicha de mariscos, se realizó una catación para determinar el perfil de sabor, textura y apariencia. A continuación se detalla el procedimiento para determinar los perfiles mencionados anteriormente:

Se presentó 4 muestras de la salchicha con los diferentes niveles de colágeno respectivamente codificados. La evaluación sensorial se realizó por panelistas (estudiantes de la carrera de Ingeniería en Industrias Pecuarias), seleccionados por sus habilidades desarrolladas mediante el conocimiento de la cátedra de análisis sensorial. Para evaluar el producto fue necesario definir los parámetros sensoriales que caracterizan el sabor, textura y apariencia; la definición de los parámetros se logró a través de la revisión bibliográfica y del consenso de los panelistas.

c. Análisis microbiológico.

Los análisis microbiológicos para coliformes totales, coliformes fecales, Levaduras y mohos UFC/g son similares a los empleados para el análisis microbiológico del colágeno según, (Minnesota Mining and Manufacturing Company 3M, 2000).

d. Análisis bromatológico.

(1) Proteína%.

Método de Kjeldahl propuesto por, (AOAC, 2005).

(2) Humedad%.

El método se basó en el secado de una muestra en un horno y su determinación por diferencia de peso entre el material seco y húmedo, según, (INEN, 2012).

(3) Minerales%

El método se basó en el precalcinado de una muestra en una cocineta y su calcinación en la mufla a 550 °C, según, (INEN 786, 1985).

(4) Grasa

Se considera grasa al extracto etéreo que se obtiene cuando la muestra fue sometida a extracción con éter etílico (método de Soxhlet), (Vasco, 2008). El procedimiento se detalla a continuación:

- Se pesó 2 g de muestra. Se hizo con el papel filtro un capuchón de tal forma que la muestra quede segura. Se colocó el paquete en la cámara de extracción.
- Se pesó el vaso vacío, en el cual, posteriormente se depositó la grasa. Se fijó el vaso a la parte inferior del Soxhlet en forma segura con la finalidad de evitar la fuga del éter etílico.

- Por la parte superior del Soxhlet se vertió el éter etílico hasta que por diferencia de presión baje a través del cuello del Soxhlet al balón, luego se añadió éter etílico hasta cubrir el paquete. Se fijó bien el Soxhlet a la parte inferior del refrigerante.
- Se empezó la extracción durante 4 horas, utilizando una hornilla. Se controló que el flujo de agua en el refrigerante no se interrumpa.
- Después de las cuatro horas de la extracción se recuperó el solvente a medida que se condense en la cámara de extracción. Se dejó enfriar el vaso conteniendo la grasa para luego colocar en la estufa durante una hora para que el éter se evapore completamente y solo se obtenga grasa.
- Finalmente de estar una hora en la estufa, se dejó enfriar a temperatura ambiente pese el vaso conteniendo la grasa y anote el peso.

(5) Extracto libre de nitrógeno

Dentro de este concepto se encuentran todos los nutrientes no evaluados con los métodos señalados anteriormente, constituido principalmente por carbohidratos digeribles así como también vitaminas y demás compuestos orgánicos solubles no nitrogenados. El extracto libre de nitrógeno es cien menos la suma de los porcentajes calculados de humedad, proteína, cenizas y grasa.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

A. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DEL COLÁGENO DE LA VEJIGA NATATORIA DEL BAGRE (*B. panamensis*).

Los resultados del análisis bromatológicos del colágeno obtenido y de un colágeno comercial se reportan en el Tabla 10, que se presenta a continuación.

Tabla 10. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DEL COLÁGENO DE LA VEJIGA NATATORIA DEL BAGRE (*B. panamensis*) Y COLÁGENO COMERCIAL.

Variables	Media	CV %	Colágeno Comercial
Proteína %	76.86	1.15	91.17
Humedad %	9.02	17.14	6.35
Cenizas %	14.12	4.92	2.48
pH	4.55	2.40	5.65
Capacidad de Retención de agua%	0.02	0.00	0
Capacidad de Emulsificación %	47.08	1.54	0
Conductividad	0.32	11.38	267.13
Hidroxiprolina %	44.48	1.82	13.5

CV: Coeficiente de Variación

1. Contenido de proteína

El contenido promedio de proteína encontrados en el colágeno de la vejiga natatoria del bagre, tuvo un coeficiente de variación del 1.15 % debido al método utilizado para la cuantificación de proteína. Se analizaron cuatro muestras de las cuales se obtuvieron los siguientes valores 77,46 ,77,76 , 75,96 , 76.25 % respectivamente (Gráfico 1), Solari & Córdova, (2015), manifiestan que el porcentaje de colágeno extraído de residuos de procesamiento de *Engraulis ringens* representa el 87,6 % de proteína; además Martínez et al., (2011), indica que una gelatina realizada a base de piel de trucha tiene 80,41 % de proteína.

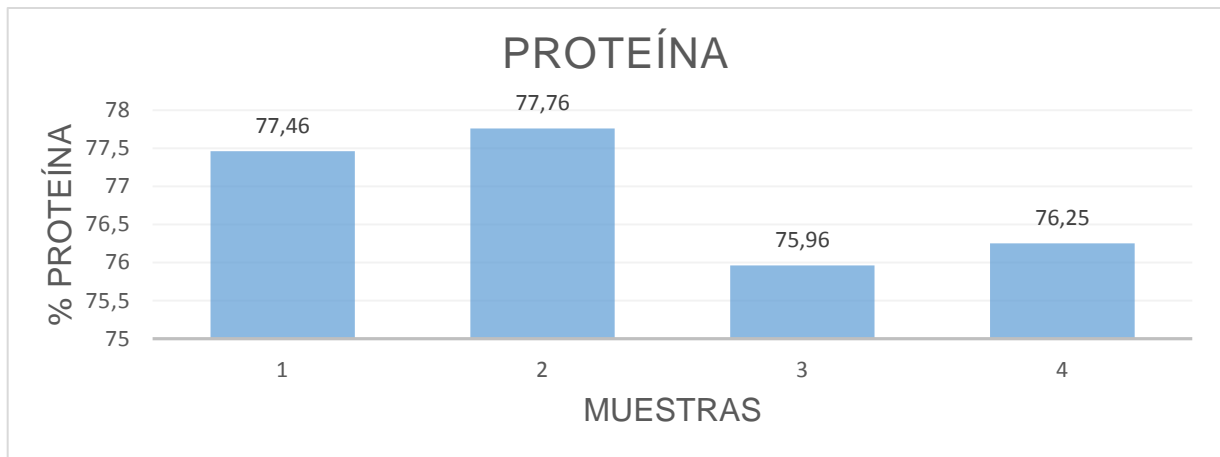


Gráfico 1. Contenido de proteína del colágeno extraído de la vejiga natatoria del bagre.

El contenido de proteína puede variar por varios factores como: la especie del pez, la estación del año, el subproducto a utilizar como materia prima así como también de los alimentos que hayan consumido durante su vida.

2. Contenido de humedad (%)

De igual manera se analizaron cuatro muestras de colágeno de las cuales se obtuvo los siguientes valores: 8,32 ,7,23 , 10,70 y 9.83 %, (Gráfico 2) con alto porcentaje de coeficiente de variación de 17.14 % posiblemente por factores que influenciaron el proceso de obtención y tiempo de liofilización al que fue sometido cada muestra. Solari & Córdova, (2015), reporta que la humedad del colágeno de residuos de pescado es de 8,0 % y el colágeno obtenido de residuos bovinos es del 11 % según, (Peralta et al., 2012).

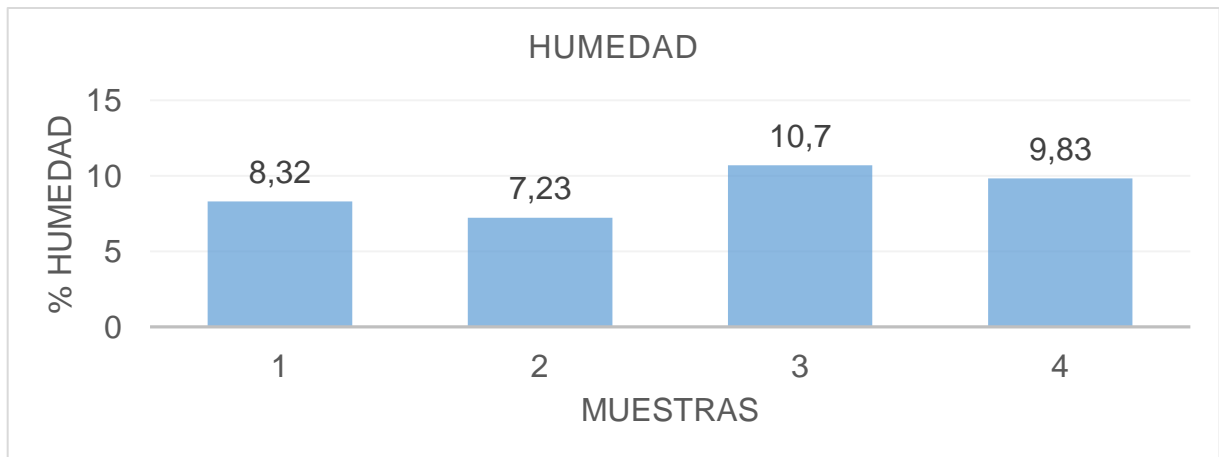


Gráfico 2. Contenido de Humedad del colágeno extraído de la vejiga natatoria del bagre.

El contenido de humedad es importante en la calidad del producto, pues de ello depende el desarrollo microbiano. Entonces de acuerdo a la literatura citada y los valores obtenidos en este estudio se puede decir que el colágeno obtenido puede llegar a tener un limitado desarrollo microbiano.

3. Contenido de cenizas (%)

El contenido de cenizas se obtuvo analizando cuatro muestras de las cuales los valores fueron: 14,22 ,15,01 ,13,34 y 13.92 %, (Gráfico 3) con un coeficiente de variación de 4,92 %. Estos resultados varían con lo que indica Solari & Córdova, (2015), respecto al colágeno obtenido de residuos de *Engraulis ringens* que presenta un 0,7 % y Martínez et al., (2011), también indica que la gelatina extraída de piel de trucha tiene un 3.78 % de cenizas aunque se consideran valores altos, difieren con los valores obtenidos en este estudio.

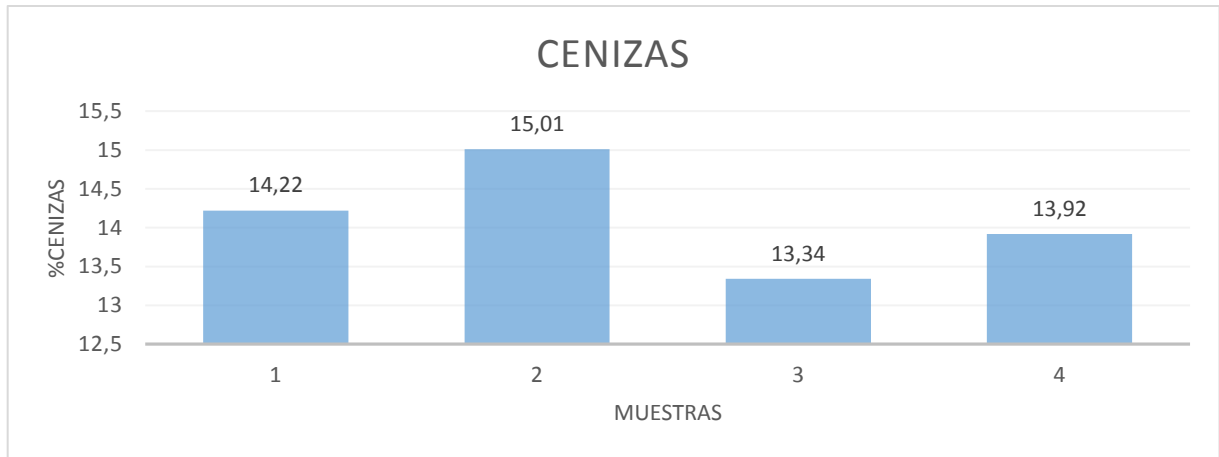


Gráfico 3. Contenido de cenizas del colágeno extraído de la vejiga natatoria del bagre.

Los valores altos de cenizas se debe a un alto contenido de sales, de las cuales el 33 % de las cenizas se considera que es calcio, esto es por el origen de la materia prima y método de extracción.

4. pH

Según Kaewdang et al., (2014), el colágeno extraído de vejigas natatorias del *Yellowfin tuna* tiene un pH de 6,05, también menciona que colágeno de pieles de diferentes pescados se encuentran con un valor de 4,72 (colágeno de bagre rayado), 6.40 (colágeno adornado de sargo) y 6.21 (colágeno de tiburón de bambú), sin embargo difieren con lo que expone Quintero & Zapata, (2017), en cuanto al pH del colágeno obtenido a partir de escamas 3,12, piel 3,50 y espinas con un pH de 3,02. Los valores obtenidos en este estudio fueron de: 4,53 ,4,68 ,4,42 y 4,57 de cuatro muestras analizadas. (Gráfico 4).

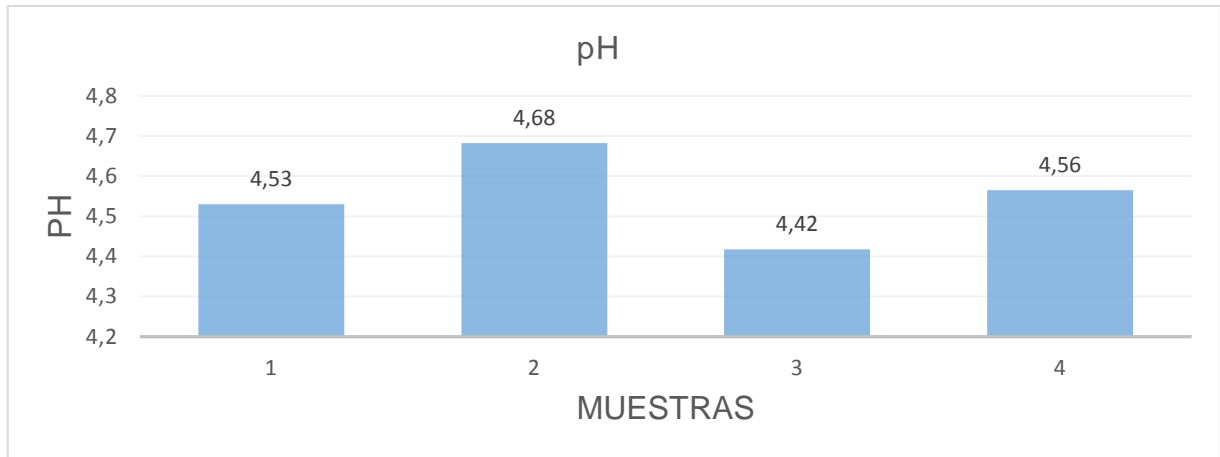


Gráfico 4. pH del colágeno extraído de la vejiga natatoria del bagre.

Aunque todos los valores de pH demuestran que son muestras ácidas, la variación en pH entre los colágenos de diversas especies de peces pueden ser causadas por la ligera diferencia en sus composiciones de aminoácidos y la distribución de residuos de aminoácidos, particularmente en los dominios de la superficie, (Kaewdang et al., 2014)

5. Capacidad de retención de agua

Se analizó cuatro muestras el valor de cada una de CRA fue de 0,02 % (Gráfico 5) y el coeficiente de variación es de 0 %, lo que indica que los datos son reproducibles, estos valores difieren con lo que reporta Sánchez, (2016), de 0,26 % para el colágeno extraído de cascos de bovinos y Peralta et al., (2012) indica que la disposición de la proteína para retener agua en su estructura molecular es directamente proporcional, ya que a mayor porcentaje de proteína mayor será la retención de agua. No obstante los valores obtenidos en este estudio difieren por el efecto de método de extracción.

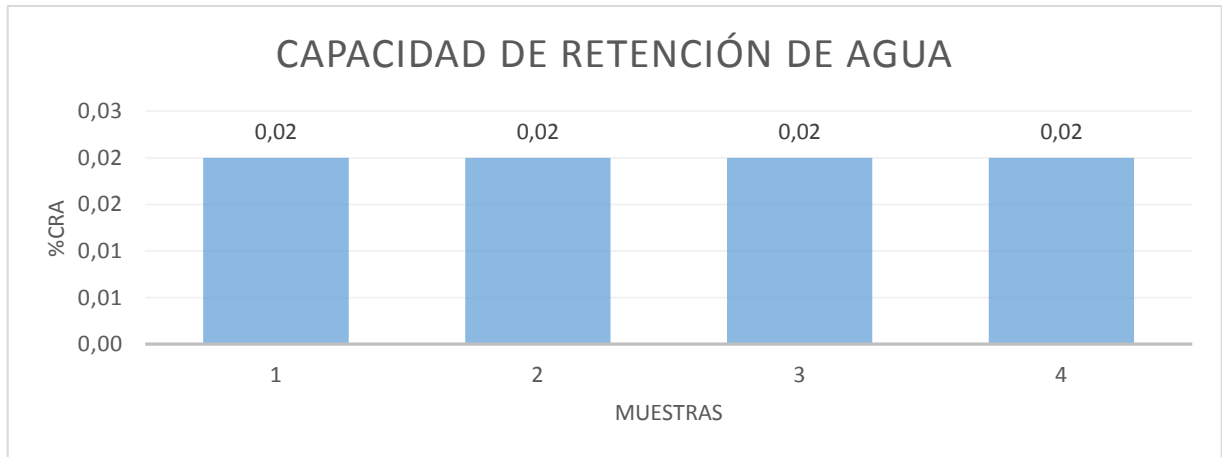


Gráfico 5. Capacidad de retención de agua del colágeno extraído de la vejiga natatoria del bagre.

6. Capacidad de emulsificación

Las proteínas tienen la capacidad de crear una interface de aceite-agua; esto depende de la clase de proteína o el grado de desnaturalización, es por ello que las cuatro muestras analizadas presentan niveles de emulsificación altos (Gráfico 6). Los valores obtenidos en este estudio son heterogéneos de Sánchez, (2016), que indica el 12,00 % y Peralta et al.,(2012), que reporta el 83,06 % de capacidad de emulsificación. Se concluye que el nivel de emulsificación de la proteína extraída depende del tratamiento de extracción y del tipo de aceite con lo que se realiza el análisis.

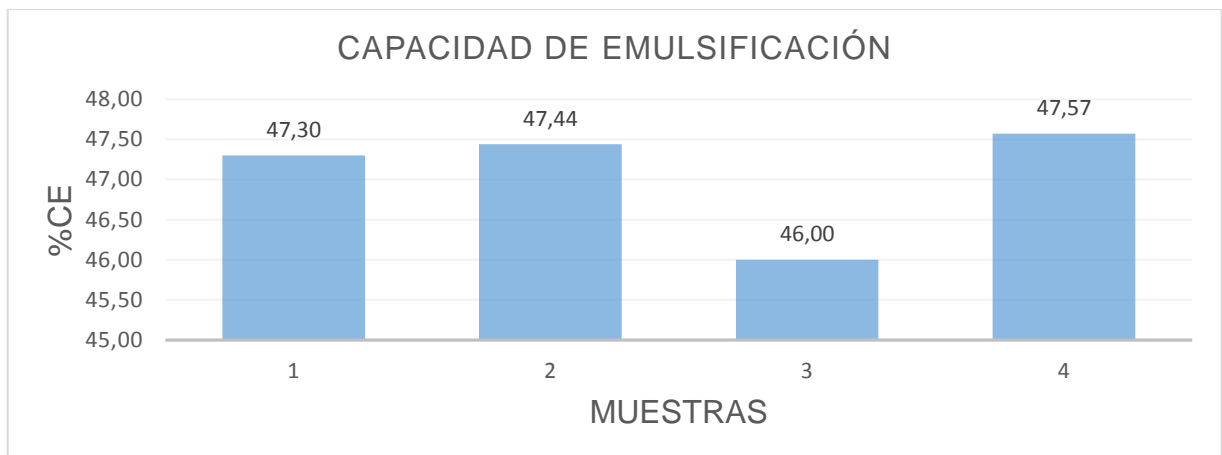


Gráfico 6. Capacidad de emulsificación del colágeno extraído de la vejiga natatoria del bagre.

7. Conductividad

Los niveles de conductividad de las cuatro muestras analizadas son de: 0,27 ,0,32 0,35 y 0,29 $\mu\text{S}/\text{cm}$. (Gráfico 7). Estos valores difieren totalmente de lo que menciona Tenelema, (2017), reporta un valor de 20,48 $\mu\text{S}/\text{cm}$ de colágeno de patas de pollo y Flores, (2017) expresa que la conductividad del colágeno de escamas de pescado es de 64,1 $\mu\text{S}/\text{cm}$, con lo citado anteriormente se puede decir que el colágeno obtenido en este experimento tiene menor conductividad que otros estudios realizados porque presenta menor cantidad sales solubles. Entonces el colágeno es recomendable aplicar en alimentos por su grado de pureza. La conductividad en alimentos se define como la concentración de sales solubles presentes en la solución del sustrato que se mide mediante la conductividad eléctrica (μS).

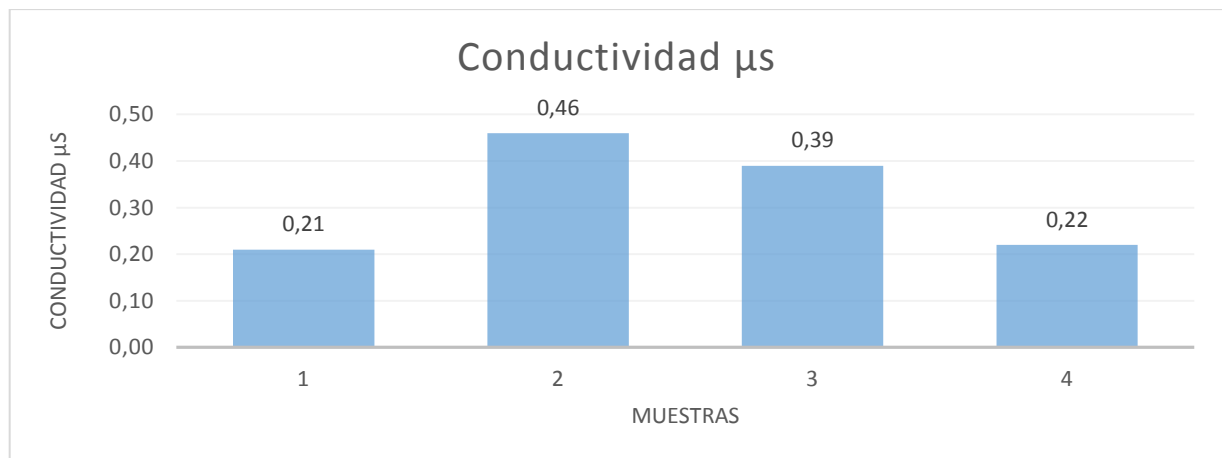


Gráfico 7. Conductividad del colágeno extraído de la vejiga natatoria del bagre.

8. Contenido de hidroxiprolina.

La hidroxiprolina es directamente proporcional al contenido de proteína y es el aminoácido en mayor cantidad presente en el colágeno. Los valores reportados

(Gráfico 8) en el estudio tiene una media 44,48 % de Hpro en el colágeno extraído de vejiga natatoria del bagre, los mismos que difieren de los valores anunciados por Quintero & Zapata, (2017), que son 0,23 % en escamas y 0,30 % en piel y Torres et al., (2008), manifiesta que el colágeno del tentáculo de calamar tiene 2,84 % de Hpro. Los aminoácidos secundarios (prolina e hidroxiprolina) se relacionan con la presencia de colágeno ya que estos aminoácidos no se encuentran de manera habitual en otras proteínas.

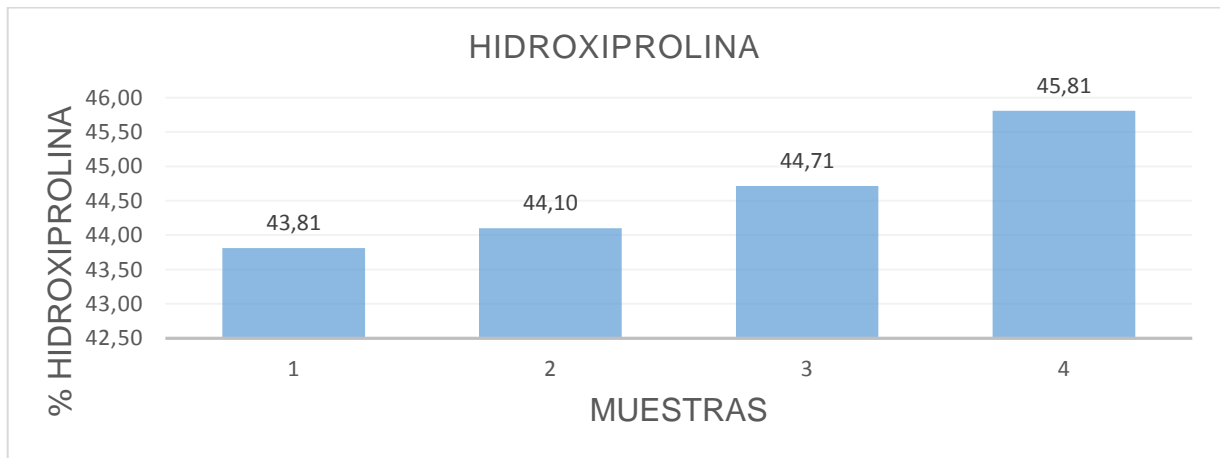


Gráfico 8. Contenido de hidroxiprolina del colágeno extraído de la vejiga natatoria del bagre.

Hay un estudio realizado por Fernandez et al., (2008) de la caracterización del colágeno obtenido de vejigas natatorias del Atún de aleta amarilla, el cual tiene un rango de 102 a 854 ug/g de Hpro presente en el colágeno, el mismo que indica que el colágeno de vejiga natatoria de bagre está dentro de este rango presentando un valor promedio de 145.67 ug/g. El colágeno tiene un 35 % de prolina e hidroxiprolina, cuanto más abundante sea este aminoácido, más rígido y resistente es el colágeno.

B. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL COLAGENO DE LA VEJIGA NATATORIA DEL BAGRE (*B. panamensis*).

La tabla 11 muestra los requisitos microbiológicos y los resultados de las pruebas realizadas al colágeno obtenido según la metodología propuesta, donde se presenta que el colágeno vejiga natatoria de bagre cumple con los requisitos de la Norma Técnica Colombiana 3750, estos valores demuestran que la extracción fue aseptica e higienicamente efectiva.

Tabla 11. REQUISITOS Y RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DEL COLÁGENO.

Requisitos	Requerido	Determinado
Coliformes totales	<10 UFC/gr	Ausente
Levaduras y Mohos	<10 UFC/gr	Ausente

UFC= Unidades formadoras de colonia.

C. ANÁLISIS SENSORIAL DEL COLAGENO DE LA VEJIGA NATATORIA DEL BAGRE (*B. panamensis*).

La calidad sensorial es un conjunto de sensaciones experimentadas por el ser humano proveniente de los estímulos que aparecen en su entorno, es el estado de ánimo o respuesta a un estímulo físico y químico a través de los sentidos. El colágeno obtenido de vejiga natatoria de bagre (SALVAR) fue sometido a una evaluación sensorial descriptiva y comparada con un colágeno comercial VEDA de de origen de escamas como se muestra en la tabla 12.

Tabla 12. EVALUACIÓN SENSORIAL DESCRIPTIVA DEL COLÁGENO OBTENIDO.

Atributo	Varsal	Colágeno comercial (veda)
Color	Ligeramente amarillento	Blanco
Olor	Ligeramente acético	Inoloro
Sabor	Acético, salino	Insípido
Textura	Liso, granular, aceitoso	Liso, granular

Fuente: (Autores,2017).

El color ligeramente amarillento se debe a una mínima cantidad de azúcares presentes, el olor y sabor avinagrado es por la utilización de ácido acético e inadecuado lavado de la vejiga natatoria en el método extracción del colágeno: para evitar este olor se recomienda desodorizar al producto.

D. DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO

Para obtener colágeno de vejigas natatorias de bagre se utilizó ocho muestras de 200 g cada una, después de obtener el colágeno se liofilizó y se obtuvo el rendimiento aplicando la siguiente ecuación y como se observa en la tabla 13.

%RENDIMIENTO = Gramos de producto/Gramos de la materia prima * 100.

Tabla 13. RENDIMIENTO DEL COLÁGENO

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Promedio
Materia prima gr	400	400	400	400	
Total liofilizado gr	340.22	338.36	320.29	350.11	84.31
Rendimiento %	85.06	84.59	80.07	87.53	

Fuente: (Autores, 2017).

Obteniendo un promedio de rendimiento de 84,31 % de colágeno total en relación de 400 g de vejiga natatoria de bagre, demostrando que esta materia prima es una excelente fuente de colágeno.

E. ANALISIS FISICO-QUIMICO DE LA SALCHICHA DE MARISCOS CON DIFERENTES NIVELES DE COLÁGENO.

Los resultados del análisis físico-químico del colágeno se reporta en el Tabla 14, que se presentan a continuación.

Tabla 14. ANALISIS FISICO-QUIMICO DE LA SALCHICHA DE MARISCOS CON DIFERENTES NIVELES DE COLÁGENO.

Variables	Niveles de Colágeno (%)				E.E.	Prob.
	0	2	4	6		
Proteína (%)	17.63 d	19.50 c	20.75 b	21.41 a	0.05	1.5E-14
Cenizas (%)	10.60 a	10.74 a	10.23 a	10.05 a	0.31	0.39
Humedad (%)	62.95 a	60.66 b	60.31 bc	60.03 c	0.15	2.6E-08
Grasa (%)	8.52 b	8.70 a	8.26 c	8.11 c	0.04	7.6E-07
ELN (%)	0.30 c	0.39 b	0.45 a	0.39 ab	0.01	5.8E-05
pH	6.56 a	6.36 b	6.19 c	6.24 c	0.02	1.6E-08
CRA (%)	22.64 c	23.16 b	24.73 a	24.87 a	0.09	5.4E-10
CE(%)	28.57 d	33.86 c	41.43 b	58.57 a	1.11	1.4E-09

E.E.: Error Estándar.

Medias con letras diferentes difieren estadísticamente de acuerdo a la prueba de Tukey.

Letras diferentes difieren significativamente según Tukey.

1. Contenido de Proteína (%).

El contenido de proteína encontrado en la salchicha de mariscos con diferentes niveles de colágeno fueron diferentes estadísticamente ($P < 0.05$) y ($P < 0.01$), por efecto de los niveles de colágeno empleados en la elaboración del embutido los valores determinados fueron de 17,63, 19,50, 20,75 y 21,41 % que corresponden al empleo de niveles de 0, 2, 4 y 6 % de colágeno respectivamente, estos resultados son mayores a los que menciona Huda, Alistair, Lim, & Nopianti, (2012) , que el contenido de proteína de salchicha de pescado es de 10,77 % y Ortega, (2014), indica que el contenido proteico debe ser mínimo del 12 %. Mediante el análisis de regresión se estableció una tendencia cuadrática significativa, demostrando que a

medida que se incrementa los niveles de colágeno, la cantidad de proteína de la salchicha se incrementa en 1.082 unidades, como se observa en el (Gráfico 9). Los valores obtenidos son similares a los que reporta Sousa et al., (2016), los cuales son: 18,31, 19,20, 22,61 y 26,28 % de proteína en salchichas con reemplazo parcial de grasa por colágeno hidrolizado. Demostrando que el colágeno aumenta la cantidad proteica de los embutidos.

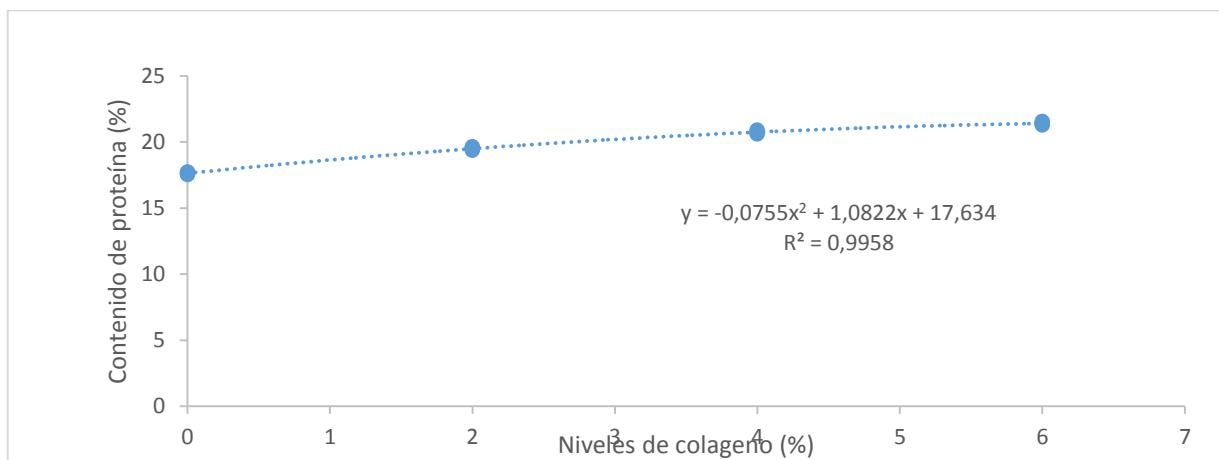


Gráfico 9. Contenido de proteína de la salchicha de mariscos con diferentes niveles de colágeno.

2. Contenido de cenizas (%).

El contenido de ceniza de la salchicha de mariscos con diferentes niveles de colágeno variaron numéricamente entre 10.05 a 10.74 % (Gráfico 10), variaciones que estadísticamente no son significativas ($P < 0.05$) y ($P < 0.01$), estos valores no concuerdan con lo indicando por Sousa et al.,(2016), con valores de 1,32 a 1,86 % y Huda et al.,(2012), reporta 2,61 %. El contenido de cenizas aumenta con una mayor adición de colágeno, reduciendo el contenido de humedad debido a una posible actividad quelante de minerales por la acción de colágeno, (Sousa et al., 2016).

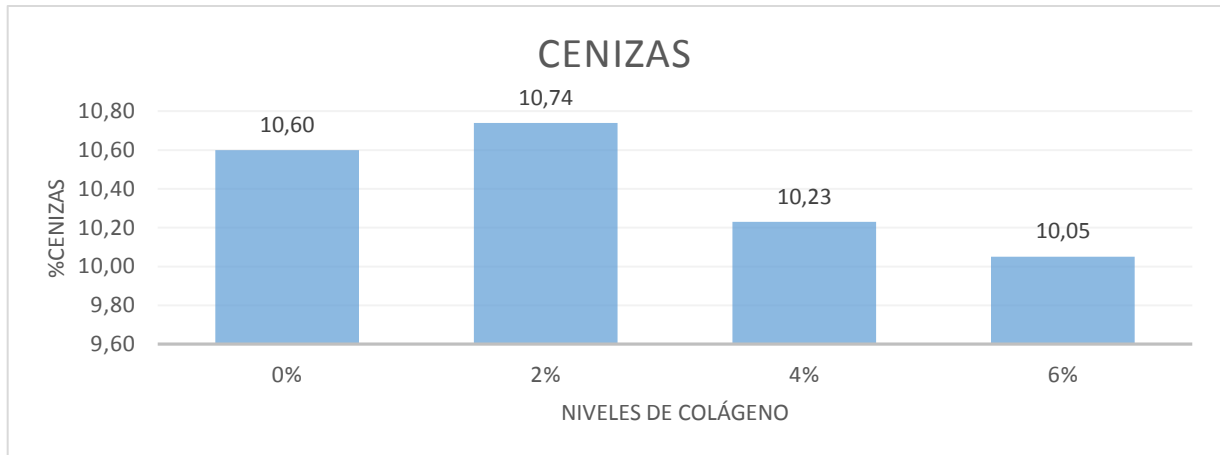


Gráfico 10. Contenido de cenizas de la salchicha de mariscos con diferentes niveles de colágeno.

3. Contenido de Humedad (%).

La humedad cuantificada en la salchicha de mariscos con diferentes niveles de colágeno difieren estadísticamente ($P < 0.05$) y ($P < 0.01$), por la influencia de los niveles de colágeno empleados en la elaboración del embutido los valores determinados fueron de 62,95, 60,66, 60,31 y 60,03 % que corresponden al empleo de niveles de 0, 2, 4 y 6 % de colágeno respectivamente. Mediante el análisis de regresión se estableció una tendencia cúbica significativa, demostrando que a medida que se incrementa los niveles de colágeno, el porcentaje de humedad de la salchicha desciende en 0.039 unidades, como se observa en el (Gráfico 11). Estos resultados indican que a mayor contenido de colágeno menor el porcentaje de humedad como demuestra Sousa et al., (2016), con valores de 63,10 a 54,69 %.

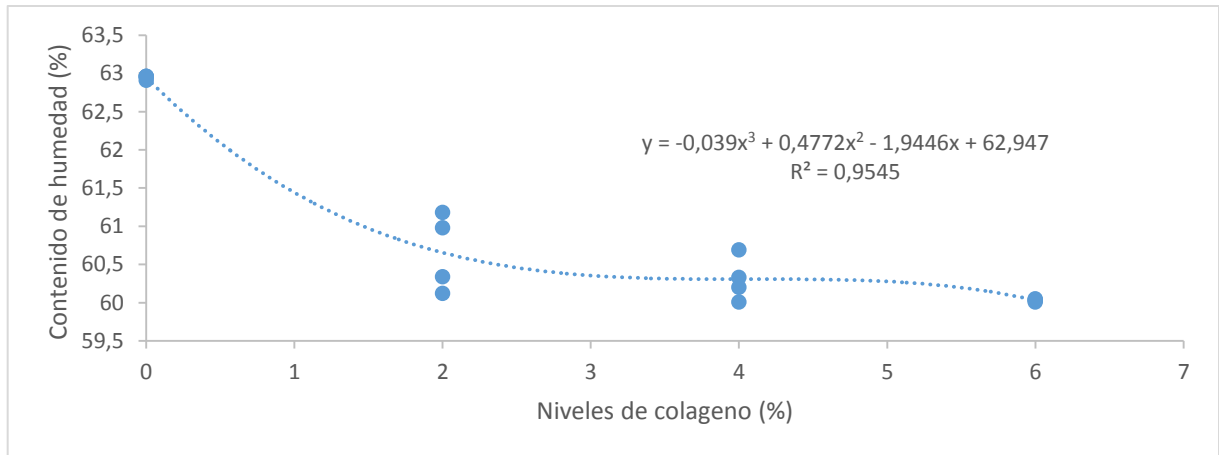


Gráfico 11. Contenido de humedad de la salchicha de mariscos con diferentes niveles de colágeno.

Así mismo la humedad en salchichas se influencia por los niveles de colágeno porque es un concentrado proteico con alto contenido de cenizas que probablemente reduce el contenido de humedad debido a una posible actividad quelante de los minerales.

4. Contenido de Grasa (%).

El contenido de grasa en la salchicha de mariscos con diferentes niveles de colágeno se evidenció que hay diferencias significativas ($P < 0.05$) y ($P < 0.01$), los valores determinados fueron de 8,52, 8,70, 8,26 y 8,11 % que corresponden al empleo de niveles de 0, 2, 4 y 6 % de colágeno respectivamente. Huda et al., (2012), expresa valores de 0,93 a 6,53 % de grasa en diferentes tipos de salchichas de pescado. El análisis de regresión se estableció una tendencia cúbica significativa, demostrando que a el contenido de grasa aumenta en 0.3948 unidades y disminuye en un 0.1909 unidades dependiendo del porcentaje de colágeno empleado. (Gráfico 12).

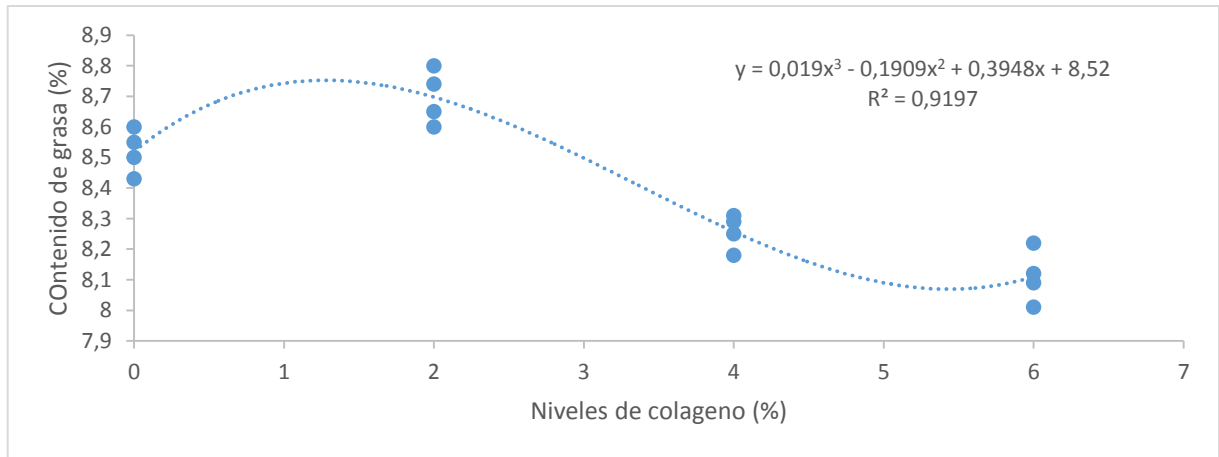


Gráfico 12. Contenido de grasa de la salchicha de mariscos con diferentes niveles de colágeno.

5. Contenido de Extracto libre de nitrógeno (%).

El extracto libre de nitrógeno se debe a la adición de azúcares y almidón en la elaboración de embutidos, esto se relaciona con lo que indica Huda et al., (2012), presenta un valor de 12,30 % por azúcar y 14,13 % por almidón en sus formulaciones. Los valores obtenidos hay diferencias significativas ($P < 0.05$) y ($P < 0.01$).

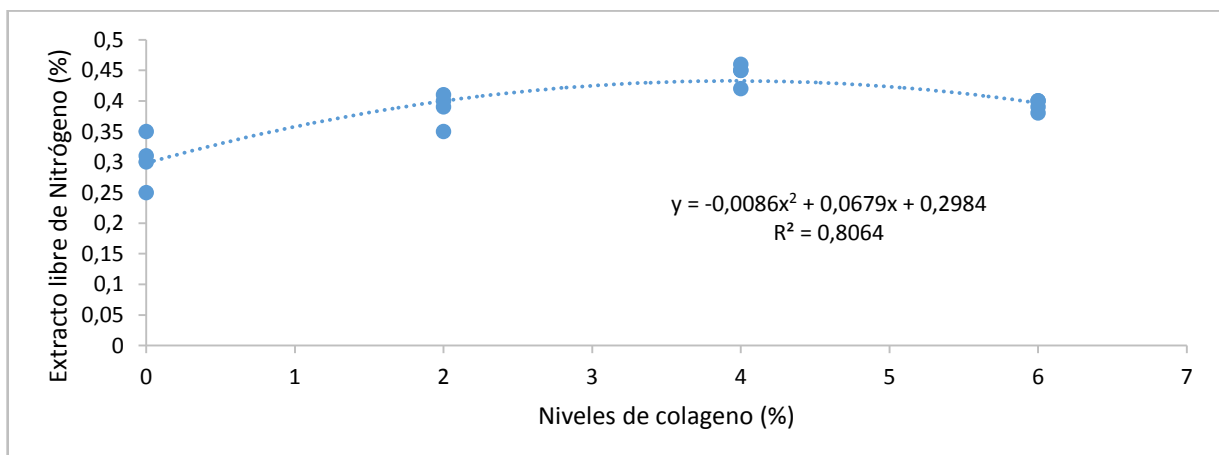


Gráfico 13. Contenido de extracto libre de nitrógeno de la salchicha de mariscos.

En el análisis de regresión se demuestra que hay un incremento del extracto libre de

nitrógeno de 0.0679 unidades desde el nivel 0 a 4 % de colágeno, mientras que cuando se añade 4 a 6 % de colágeno disminuye en un 0.0086 unidades (Gráfico 13). Esto se debe al bajo contenido de almidón que se utilizó en la formulación.

6. pH (%).

Los valores de pH obtenidos son de 6,56, 6,36, 6,19 y 6,24 indicando que hay diferencias significativas ($P < 0.05$) y ($P < 0.01$), por efecto de los niveles de colágeno empleados. El análisis de regresión indica que entre el nivel 0 al 4 % hay un descenso del pH en 0.1482 unidades, mientras que del nivel 4 a 6 % hay un incremento de 0.015 unidades como muestra el (Gráfico 14).

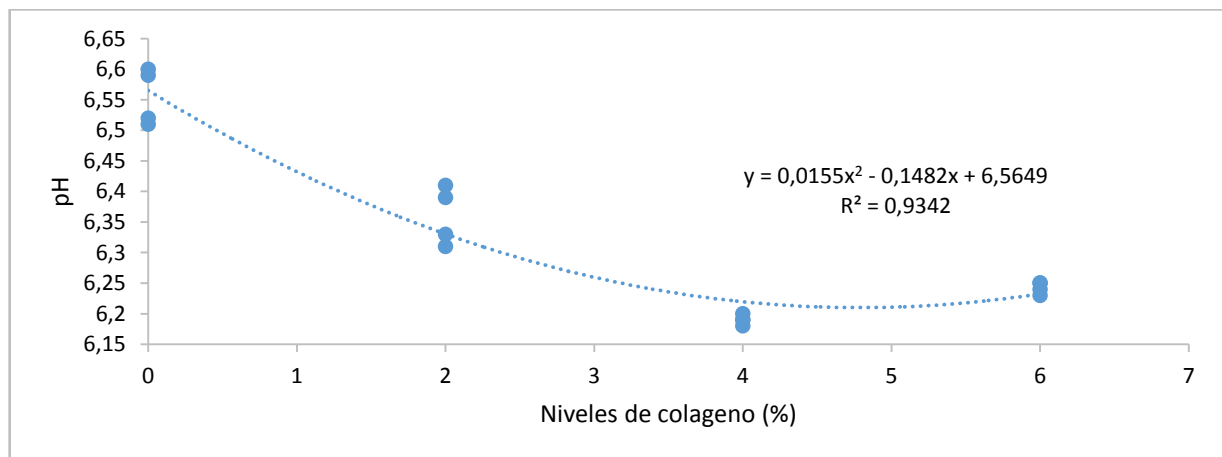


Gráfico 14. pH de la salchicha de mariscos con diferentes niveles de colágeno.

Los valores obtenidos en este estudio están relacionados con la investigación realizada por Pereira et al., (2011), que expresa un promedio de pH de 6,42 recalando que el incremento de pH depende de la cantidad de colágeno utilizada en la fomulación; también estos valores están de acuerdo con los requisitos bromatológicos de la INEN 783, dando un valor máximo de 6,5 de pH.

7. Capacidad de Retención agua (%).

La capacidad de retención de agua encontrados en la salchicha de mariscos con diferentes niveles de colágeno fueron diferentes estadísticamente ($P < 0.05$) y ($P < 0.01$), por efecto de los niveles de colágeno empleados en la elaboración del embutido los valores determinados fueron de 22,64, 23,16, 24,73 y 24,87 % que corresponden al empleo de niveles de 0, 2, 4 y 6 % de colágeno respectivamente. El análisis de la regresión revela que a medida que se incrementa los niveles de colágeno, la CRA de la salchicha se incrementa en 0.4369 unidades, notándose que entre el nivel 4 y 6 % se estabiliza la CRA como se observa en el (Gráfico 15).

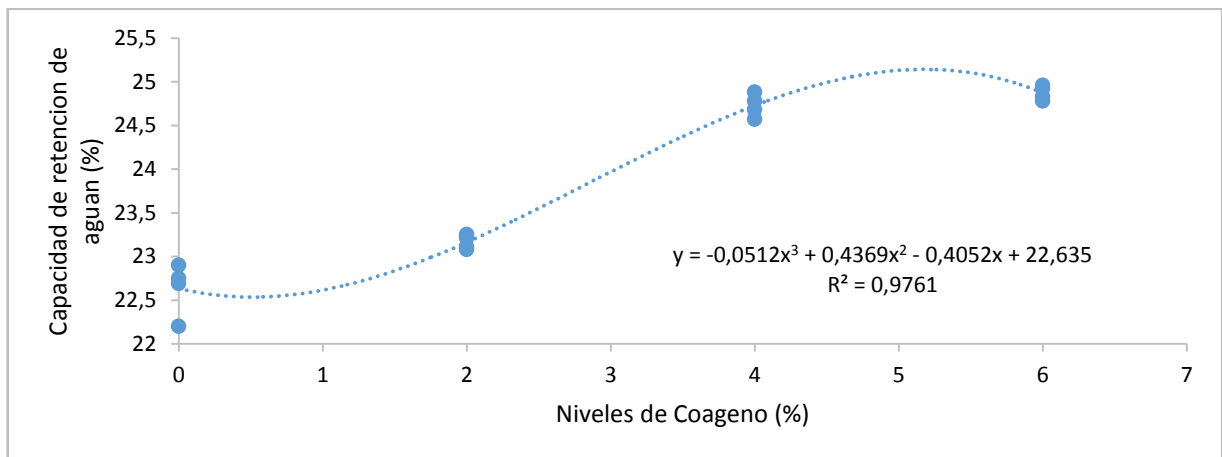


Gráfico 15. Capacidad de retención de agua de la salchicha de mariscos con diferentes niveles de colágeno.

Sousa et al., (2016), presenta del 74 al 80 % de capacidad de retención de agua, hay que tener en cuenta que este estudio emplearon niveles muy altos de colágeno hidrolizado a diferencia del estudio propuesto. El colágeno triturado y en forma de polvo fino, puede incrementar su capacidad de retención de agua, debido a la forma física de la matriz proteica ya que se hincha al contacto con el agua.

8. Capacidad de Emulsificación (%).

Mediante el análisis de regresión se estableció una tendencia lineal, que establece que a medida que se incrementa los niveles de colágeno, la CE% de la salchicha de

mariscos se incrementa en 4.8785 unidades, como se observa en el (Gráfico 16).

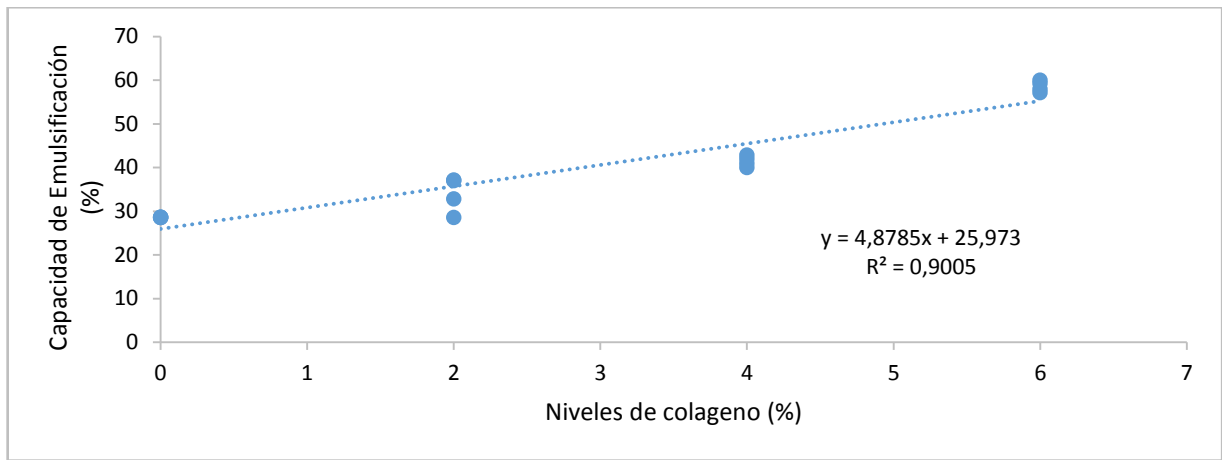


Gráfico 16. Capacidad de emulsificación de la salchicha de mariscos con diferentes niveles de colágeno.

Sousa et al.,(2016), prueba que se espera una mayor estabilidad de la emulsión a mayor contenido de colágeno, debido a la interacción hidrofilia entre los aminoácidos del colágeno y las proteínas cárnicas, presentando un valor mínimo de 93,1 % y máximo de 96,2 %. Esta investigación demuestra que es directamente proporcional el nivel de colágeno con la CE%.

F. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA SALCHICHA DE MARISCOS CON DIFERENTES NIVELES DE COLÁGENO.

Los resultados del análisis microbiológicos se reporta en el Tabla 15, que se analiza a continuación.

Tabla 15. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA SALCHICHA DE MARISCOS.

Variables	Niveles de Colágeno (%)				E.E.	Prob.
	0	2	4	6		
Coliformes totales (UFC/g)	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00	-----
Mohos y levaduras (UFC/g)	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00	-----

E.E.: Error Estándar.

Medias con letras diferentes difieren estadísticamente de acuerdo a la prueba de Tukey.
UFC=Unidades formadoras de colonia.

Los resultados del análisis microbiológico de la salchicha de mariscos están dentro de los requisitos que menciona INEN-1338, (2012), indicando que debe existir máximo de Coliformes totales 10^3 UFC/g, y ausencia de Mohos y levaduras. Los valores obtenidos demuestran una asepsia en la elaboración del producto y utilización de colágeno con un pH ácido que inhibe el crecimiento de microorganismos.

G. ANÁLISIS SENSORIAL DE LA SALCHICHA DE MARISCOS CON DIFERENTES NIVELES DE COLÁGENO

Los resultados de la evaluación sensorial de la salchicha de mariscos, por efecto de los niveles de colágeno se muestran en la tabla 16, los mismos que se muestran a continuación:

Tabla16. ANÁLISIS SENOSRIAL DE LA SALCHICHA DE MARISCOS CON DIFERENTES NIVELES DE COLÁGENO.

Variables	Niveles de Colágeno (%)				E.E.	Prob.
	0	2	4	6		
Dureza	3.21 a	2.46 ab	2.38 b	3.26 ab	0.20	0.01
Gomosidad	2.73 a	2.33 a	2.67 a	2.75 a	0.12	0.11
Pastoso	2.59 a	2.75 a	3.00 a	2.75 a	0.15	0.31
Elasticidad	3.02 a	2.46 ab	1.96 b	2.42 ab	0.20	0.02
Cohesividad	2.74 a	2.58 a	2.25 a	2.75 a	0.23	0.40
Masticabilidad	3.43 a	3.08 a	2.54 a	2.88 a	0.20	0.06
Liso	2.55 a	2.92 a	2.04 a	2.75 a	0.27	0.18
Rugoso	2.49 a	2.00 a	2.25 a	2.00 a	0.29	0.59
Seco	2.16 a	2.00 a	2.50 a	2.25 a	0.22	0.46
Húmedo	2.48 a	2.92 a	2.58 a	2.46 a	0.23	0.47
Grasoso	2.08 a	2.58 a	2.54 a	2.42 a	0.23	0.43
Aceitoso	2.11 a	2.21 a	2.17 a	2.00 a	0.22	0.91
Satinado	2.18 a	2.17 a	2.42 a	2.33 a	0.26	0.87
Pálido	2.91 ab	2.50 b	3.13 a	2.67 ab	0.12	0.01
Agrura	1.77 a	1.96 a	2.17 a	2.25 a	0.24	0.50
Salinidad	2.57 a	2.21 a	2.54 a	2.42 a	0.26	0.76
Enmascaramiento	2.46 a	2.50 a	2.25 a	2.33 a	0.21	0.82
Rancio	2.16 a	1.92 a	2.21 a	2.13 a	0.19	0.73
Umami	2.81 a	2.46 a	2.92 a	2.42 a	0.18	0.19

E.E.: Error Estándar.

Medias con letras diferentes difieren estadísticamente de acuerdo a la prueba de Tukey.

1. Dureza

El atributo de dureza de la salchicha de mariscos con diferentes niveles de

colágeno, en los valores de la intensidad del atributo existieron diferencias significativas ($P < 0.05$) y ($P < 0.01$). El análisis de regresión indica que el nivel de colágeno que influye en la dureza es del 6 % ya que aumenta en un 0.1021 unidades con respecto al nivel 0 %, mientras con los niveles 2 y 4 % la dureza disminuye en un 0.624 unidades demostrando que estos niveles no influyen en la dureza (Gráfico 17).

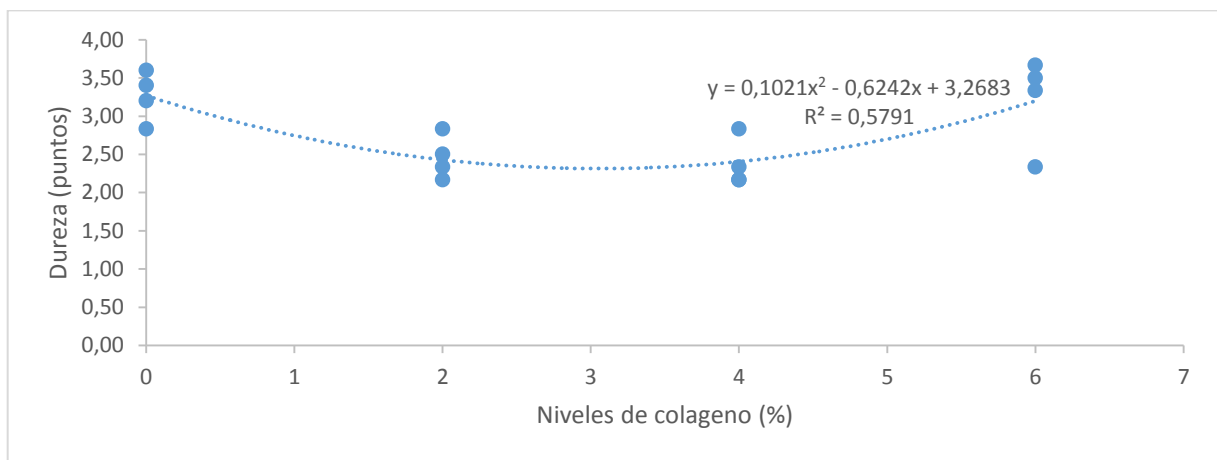


Gráfico 17. Dureza de la salchicha de mariscos con diferentes niveles de colágeno.

Pereira et al., (2011) y Huda et al., (2012), concuerdan que el uso de colágeno hidrolizado dio como resultado un aumento en la variable de dureza, porque el colágeno ayuda a retener químicamente agua y la cohesión de las fibras de colágeno contribuyen a la firmeza del producto final.

2. Elasticidad

La evaluación de la elasticidad de la salchicha de mariscos presenta un análisis de regresión cuadrática significativa, presentando un leve incremento de 0.0635 unidades desde el nivel 4 al nivel 6 %, como se muestra en el (Gráfico 17). Según Huda et al., (2012), la frescura del pescado afecta la elasticidad de la salchicha de mariscos, en esta investigación observaron que la elasticidad disminuía cuando se usaba pescado deteriorado como materia prima. Las proteínas tanto sarcoplásmicas

como miofibrilares afectaron la elasticidad de la masa cocida ya que la cantidad de ambas proteínas se ve afectada por el lavado.

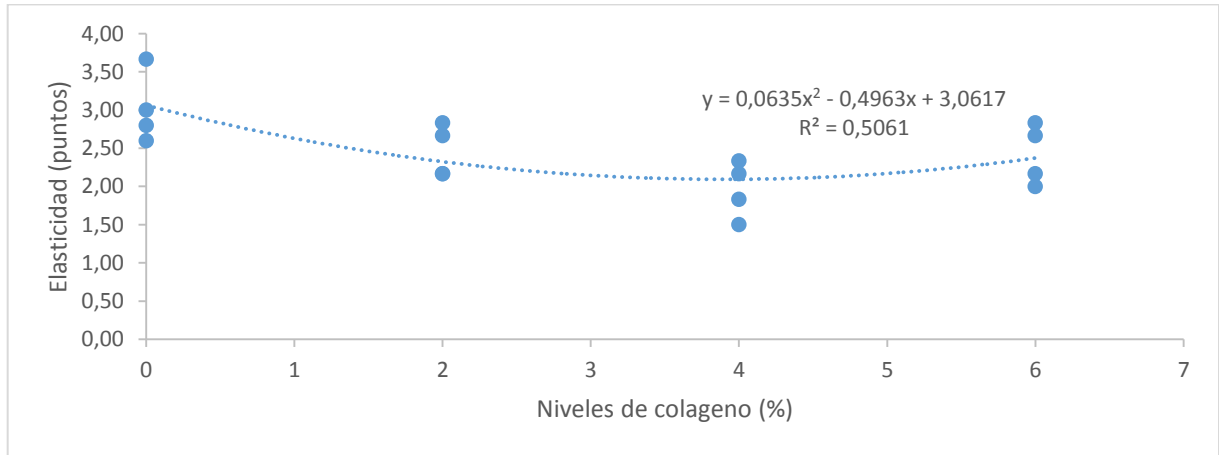


Gráfico 17. Elasticidad de la salchicha de mariscos con diferentes niveles de colágeno.

3. Pálido

Los valores obtenidos de este atributo son altamente significativos ($P < 0.05$) y ($P < 0.01$). El análisis de regresión cúbica significativa muestra que del nivel 0 a 2 % hay una disminución del brillo de la salchicha en un 0.0441 unidades, incrementa del 2 al 5 % aproximadamente en 0.3937 unidades y en el nivel 6 % vuelve a descender (Gráfico 18). Este atributo en la salchicha se ve influenciado por efecto de la materia prima y la no utilización de colorantes.

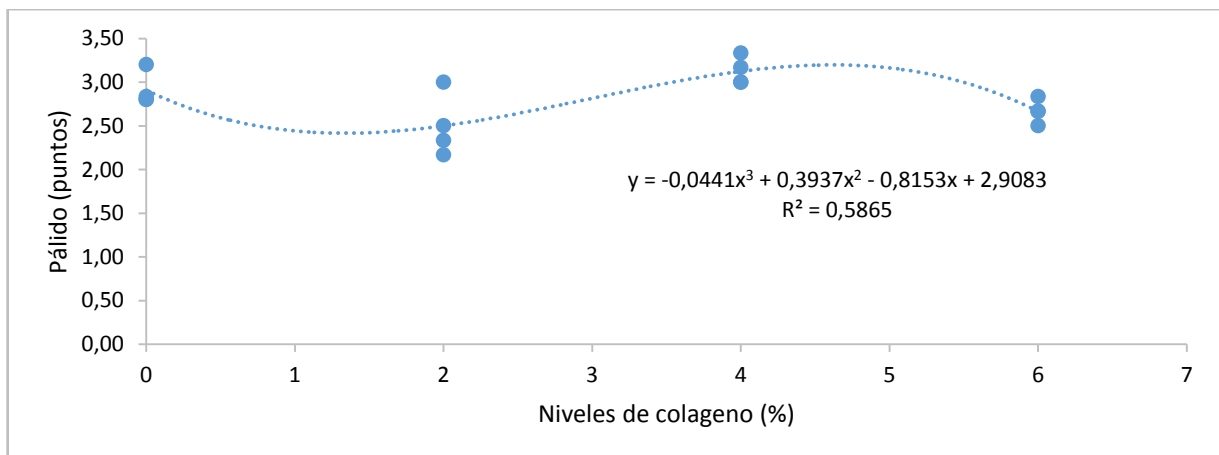


Gráfico 18. Atributo pálido de la salchicha de mariscos con diferentes niveles de colágeno.

H. EVALUACIÓN ECONÓMICA.

1. Costo de producción

El análisis económico se realizó tomando en cuenta los gastos efectuados, se estableció que los costos de producción tienden a aumentar al emplear los niveles de colágeno, porque el g de colágeno tiene un costo de producción 0.21 USD (Tabla 17), es decir que en un kilogramo de colágeno el costo de producción será de 21,00 dólares. Este costo a nivel industrial disminuirá considerablemente. Al aplicar colágeno de la vejiga natatoria de bagre en la salchicha de mariscos el costo de producción aumenta.

2. Beneficio/Costo

En la Tabla 18, se reporta el análisis del beneficio/costo (B/C), estableciendo que al usar los niveles de colágeno (0, 2, 4 y 6 %) en la salchicha de mariscos se alcanzó un beneficio costo de 1.30 representando que por cada dólar invertido se obtuvo una utilidad de 0.30 centavos de dólar, la rentabilidad económica en todos los casos son recomendables, considerándose a este tipo de actividad industrial bastante rentable.

Tabla 17. COSTOS DE PRODUCCIÓN DEL COLÁGENO.

Cantidad	Medida	Descripción	C. Unitario	C. Total
1.76	lb	Vejigas de bagre	1.50	2.64
4	gl	agua destilada	2.23	8.92
3.6	ltrs	butanol	19.5	70.2
4	ml	cloro	0.01	0.04
120	g	Hidróxido de sodio	0.04	4.78
140	ml	Ácido acético	0.04	6.16
40	g	Pepsina	3.20	128
16		Fundas de digestión	0.50	8.00
12	ltrs	Liofilización	4.17	50.04

TOTAL EGRESOS	278.77
PESO FINAL (g)	1348.98
Costo de producción (g)	0.21
P.V.P (\$/g)	0.27

Tabla 18. BENEFICIO/COSTO DE LA SALCHICHA DE MARISCOS CON DIFERENTES NIVELES DE COLÁGENO.

Concepto	Precio unitario(g)	Niveles de colágeno			
		0%	2%	4%	6%
Pescado	0.011	24.20	24.20	24.2	24.2
Camarón	0.01	7.2	7.20	7.2	7.2
Grasa	0.004	1.6	1.60	1.6	1.6
Fécula de papá	0.01	2	2.00	2	2
Hielo	0.001	0.20	0.20	0.2	0.2
Colágeno	0.21	0	16.80	33.6	50.4
Sal	0.002	0.15	0.15	0.152	0.152
Fosfato	0.01	0.26	0.26	0.26	0.26
Eritorbato	0.02	0.08	0.08	0.08	0.08
Nitritos y nitratos	0.015	0.03	0.03	0.03	0.03
Pimienta	0.01	0.012	0.01	0.012	0.012
Cebolla	0.01	0.2	0.20	0.2	0.2
Ajo molido	0.03	0.6	0.60	0.6	0.6
Condimento	0.04	1.44	1.44	1.44	1.44
Orégano	0.02	0.04	0.04	0.04	0.04
Mano de obra	48	12	12	12	12
TOTAL DE					
EGRESOS	48.404	50.01	66.81	83.61	100.41
Peso final (g)		7200	5000	8500	7500
Costo de producción		0.007	0.01	0.01	0.01
P.V.P		0.01	0.02	0.01	0.02
INGRESOS					
TOTALES		65.02	86.86	108.70	130.54

BENEFICIO/COSTO	1.30	1.30	1.30	1.30
-----------------	------	------	------	------

V. CONCLUSIONES

Las conclusiones que se expresan en el presente trabajo de investigación es en base a los resultados obtenidos son las siguientes:

1. El colágeno de la vejiga natatoria del bagre (*B. panamensis*) se extrajo mediante el método básico-ácido-enzimático, se utilizó Hidróxido de sodio al 3 % y ácido acético al 3 %, finalmente se homogenizó la muestra y se añadió una solución pepsina al 1 %, obteniendo un rendimiento promedio de 84,31 %.
2. El colágeno extraído de la vejiga natatoria de bagre presentó un contenido promedio de proteína de 76,86 %, humedad 9,02 %, cenizas 14,12 %, pH 4,55, CRA 0.02 %, CE 47.08 %, conductividad de 0,32 us y hidroxiprolina 44,48 %. Se realizó un análisis microbiológico presentando ausencia de UFC/gr.
3. La adición de colágeno en la elaboración de la salchicha de mariscos, influyó en la composición bromatológica. Al utilizar el 6 % de colágeno incrementó el contenido de proteína a 21,41 %, extracto libre de nitrógeno presentó un valor de 0,44 %, las cenizas son altas por la calidad del colágeno presentando un valor 10,74 %, la humedad disminuyó 60,03 %, mientras que el contenido de grasa se mantiene en el valor de 8 %, con respecto a los otros niveles utilizados.
4. En pH es ligeramente ácido, la capacidad de retención de agua 24,87 % y la capacidad de emulsificación 58.57 %, aumentó al utilizar el 6 % de colágeno con respecto a otros niveles utilizados. Además el análisis microbiológico reportó ausencia de UFC/gr.
5. En la valoración organoléptica de la salchicha de mariscos con diferentes niveles de colágeno, presento una mejora en la textura en el atributo dureza con

un valor de 3.26 puntos al 6 % de colágeno, los niveles de colágeno no influyeron en la elasticidad de la salchicha siendo la muestra testigo la de mayor puntuación 3.02 y en el perfil de color en el atributo pálido fue mayor al emplear el 4 % de colágeno una puntuación de 3.13.

6. El costo de producción de la salchicha de mariscos se mantiene al emplear los diferentes niveles de colágeno y la rentabilidad económica no se ve afectada por los niveles de colágeno (0.01 USD/g y B/C de 1.30 respectivamente)

VI. RECOMENDACIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos se pueden realizar las siguientes recomendaciones:

1. Replicar el proceso de extracción disminuyendo la concentración de hidróxido de sodio y ácido acético, para mejorar las propiedades organolépticas del colágeno de la vejiga natatoria del bagre. Además realizar una desmineralización, liofilización continua y desodorización.
2. Utilizar el 6 % de hidrolizados proteicos como el colágeno, o en niveles superiores en la salchicha de mariscos u otros embutidos puesto que mejoró las propiedades nutricionales y sensoriales.
3. Realizar una comparación de calidad nutritiva en función del contenido de hidroxiprolina entre hidrolizados proteicos de origen vegetal y animal.

VII. LITERATURA CITADA.

- Abad, C. (2015). Suplementos de colágeno y efecto en el tratamiento de lesiones articulares. Retrieved from [http://dspace.umh.es//handle/11000/1993%5Cnhttp://dspace.umh.es//bitstream/11000/1993/1/Carlos](http://dspace.umh.es//handle/11000/1993%5Cnhttp://dspace.umh.es//bitstream/11000/1993/1/Carlos%5Cnhttp://dspace.umh.es/handle/11000/1993) Abad Expósito.pdf%5Cnhttp://dspace.umh.es/handle/11000/1993
- Álvarez, Á. (2012a). "Alternativa de aprovechamiento para el chiguil (Bagre panamensis); especie de bajo valor comercial". Universidad Autónoma de Baja California Sur.
- Álvarez, Á. (2012b). Universidad autónoma de baja california sur. Universidad Autónoma de Baja California Sur.
- AOAC. (2005). Official Methods for Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. (14th editi). Arlington.
- ARCSA. Normativa Técnica Sanitaria para Alimentos (2016). Ecuador.
- Cajiao, L., & Jaramillo, L. (2006). Estudio de prefactibilidad para la elaboración de chorizos de camarón. Universidad San Francisco de Quito .
- Castelo, M. (2001). Estudio de la Calidad Microbiológica de los pescados frescos de exportación. Universidad de Guayaquil.
- Castro, C. (2012). Obtención de colágeno a partir de crestas de pollo. Universidad Industrial de Santander. Retrieved from <http://repositorio.uis.edu.co/jspui/bitstream/123456789/478/2/145358.pdf>
- CECOPESCA. (2012). Guía para el aprovechamiento de los subproductos de pescado para la obtención de productos funcionales y bioactivos. España.
- Cedeño, G. (2015). Desarrollo y fortalecimiento de las capacidades laborales y productivas de los pescadores, del puerto pesquero artesanal de jaramijo, en el cantòn jaramijo, de la provincia de Manabì. Universidad Laica Eloy Alfaro de

Manabí.

- Charry, L. (2011). Desarrollo de un producto golosina a base de colágeno, subproducto de la industria cárnica. Universidad de las Américas.
- Choez, A., & Martínez, J. (2015). Procesamiento industrial de calamar y pescado dorado, (*dosidicus gigas* y *coryphaena hippurus*) para obtener un paté precocido en envase vidrio". Universidad de Guayaquil.
- CONAPESCA. (2012, July). Plan rector sistema de producto bagre Michoacán, A.C., 16–20.
- Dasong, L., Guanmian, W., Tiancheng, L., Jinhua, H., Naiyan, L., Regenstein, J., & Zhou, P. (2015). Effects of alkaline pretreatments and acid extraction conditions on the acid-soluble collagen from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) skin. *Food Chemistry*, 172, 5–9. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.147>
- De la torre, G. (2013). Obtencion de colageno y su efecto como capa protectora edible utilizando nisina como preservante en productos carnicos y quesos. Universidad de Guayaquil.
- Departamento de Zoología Instituto de Biología (IBUNAM). (2015). *Litopenaeus occidentalis*, ejemplar de: Colección Nacional de Crustáceos (CNCR). Retrieved from <http://datosabiertos.unam.mx/IBUNAM:CNCR:641>
- Díaz, N., Bárcena, J., Fernández, E., Galván, A., Jorrín Novo, J., Peinado, J., ... Túnez, I. (2010). Espectrofometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas. Campus Universitario de Rabanales. Departamento de Bioquímica Y Biología Molecular, 1, 1–8.
- FAO. (2010). Peces nativos de agua dulce de América del Sur de interés para la acuicultura: Una síntesis del estado de desarrollo tecnológico de su cultivo. (A. Flores & A. Brown, Eds.), FAO. Serie Acuicultura en Latinoamérica (Vol. 1). Roma: copyright@fao.org. Retrieved from <http://www.fao.org/docrep/014/i1773s/i1773s.pdf>
- FAO. (2014). El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Fao, 274. <https://doi.org/978-92-5-308275-9> ISSN1020-5500
- Fernandes, R., Couto, R., Paschoal, C., Rohling, J., & Bezerra, C. (2008). Collagen films from swim bladders: Preparation method and properties. *Science Direct*,

- 62, 17. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2007.09.011>
- Flores, C. (2017). Extracción de colágeno de las escamas de pescado utilizando diferentes niveles de rennina. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Freixanet, L. (2006). Aditivos e Ingredientes en la Fabricación de Productos Cárnicos Cocidos de Músculo Entero. *Metalquimia*, 27–41. Retrieved from <http://es.metalquimia.com/upload/document/article-es-12.pdf>
- García, L., Alejandro, C., & Carcelén, F. (2014). Santa Elena fishing sector . Analysis of marketing Introducción Materiales y Métodos. *Revista de Ciencias Pedagógicas E Innovación UPSE*, II(2), 79–86.
- García, M., de Jesús, C., & Pagán, M. (2015). Elaboración De Salchichas De Pollo, Bajas En Grasa Y Ricas En Fibra Y Omega-3. Retrieved from <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/56852/GARCÍA-REYES> - Elaboración de salchichas de pollo, bajas en grasa y ricas en fibra y omega-3..pdf?sequence=1
- Gil, F., Ayala, D., & López, O. (2014). Gónadas, vejiga natatoria y riñones de los peces. *Anatomía Veterinaria*.
- Gomez, K., Piña, C., & Rodriguez, N. (2011). Obtención y caracterización de colágena tipo I a partir de tendón bovino. *Sociedad Mexicana de Ciencia Y Tecnología de Superficies Y Materiales*, 24(4), 137–140.
- González, N. (2006). Ictiofauna del Río Mahogany y su Afluente Caño Negro en el Parque Ecológico Humedales de Mahogany ,RAAS, Nicaragua. Bluefields.
- González, P., Camacho, T., & Alcalde, M. (2007). Capacidad de retención de agua y pH de la carne de conejos de monte procedentes de la caza . II Congreso Ibérico de Cunicultura, (Payá 2006), 3–8.
- GroupCaplog. (2014). De productos marinos de lujo y las pesquerías la demanda. México.
- Guamán, R. (2011). Utilización de carne de conejo en la elaboración de salchicha tipo frankfurt. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Guarnizo, M. (2007). Caracterización seminal y ensayos preliminares de crioconservación de semen de bagre rayado (*Pseudoplatystoma fasciatum* - Linnaeus 1766). Tesis. Universidad Nacional de Colombia.

- Huda, N., Alistair, T., Lim, H., & Nopianti, R. (2012). Some Quality Characteristics of Malaysian Commercial Fish Sausage. *Pakistan Journal of Nutrition* 11, 11(8), 700–705.
- INEN-1338. Carne y productos cárnicos. productos cárnicos Crudos, productos cárnicos curados -madurados y productos cárnicos precocidos - cocidos. requisitos. Primera Edición (2012). Ecuador.
- INEN–1217. Carne y productos cárnicos. Definiciones., 1 § (2006). Ecuador.
- INEN - 2074. Aditivos alimentarios permitidos para consumo humano., 2 § (2012). Ecuador.
- INEN 1953. Norma técnica ecuatoriana nte inen 1953 : 2012 gelatina pura comestible . determinación de la pérdida por calentamiento (2012). Ecuador.
- INEN 1954. Norma técnica ecuatoriana nte inen 1954 : 2012 gelatina pura comestible. determinacion de cenizas (2012). Ecuador.
- INEN 776. Carne y productos carnicos. Muestreo (1985). Ecuador.
- INEN 786. Carne y productos cárnicos. Determinación de cenizas, 786 Instituto Ecuatoriano de Normalización § (1985). Ecuador.
- INEN 820. Agentes tensoactivos. determinacion del pH., 818 § (1982). Ecuador.
- Instituto Nacional de Pesca INP. (2006). Para el ofrecimiento de garantías oficiales respecto a la exportación de productos pesqueros y acuícolas de la Republica del Ecuador a la Unión Europea. Quito.
- Kaewdang, O., Benjakul, S., Kaewmanee, T., & Kishimura, H. (2014). Characteristics of collagens from the swim bladders of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). *FOOD CHEMISTRY*, 155, 268. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.076>
- Kobelkowsky, A., & Castillo, M. (1995). Sistema Digestivo y alimentacion de los bagres (Pisces:Ariidae) del Golfo de Mexico. *Hidrobiologica*. Mèxico: Universidad Autònoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa.
- Lema, M. (2010). “Elaboración de salchicha vienesa con la utilización de diferentes niveles de glutamato monosódico (0.2, 0.4 y 0.6 %) como potenciador de sabor.” Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Retrieved from <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/807/1/27T0170.pdf>
- Luque, V. (2011). Estructura Y Propiedades de las Proteínas. *Bioquímica Médica*

(Vol. 5).

- Manrique, D., Jiménez, S., Ortega, S., Miranda, R., Guzmán, L., & Villagómez, A. (2010). Perfil sensorial de jamón y salchichas elaboradas con carne de aves. xii congreso nacional de ciencia y tecnología *de alimentos*, ES1453.
- Martínez, G., Uresti, R. M., Ramírez, J. A., & Velazquez, G. (2011). Extracción y caracterización de algunas propiedades fisicoquímicas de gelatina de piel de trucha. *Revista Ciencia U.A.Q.*, 4(2), 26–34. Retrieved from http://www.uaq.mx/investigacion/revista_ciencia@uaq/ArchivosPDF/v4-n2/t4.pdf
- Martínez, O. (2012). Estado actual del aprovechamiento de subproductos de la industria pesquera mediante la obtención de productos de alto valor añadido. Instituto de Ciencia Y Tecnología de Alimentos Y Nutrición (ICTAN-CSIC, 1–19.
- Ministerio de Agricultura Ganadería Acucultura y Pesca MAGAP. (2016). La política Agropecuaria Ecuatoriana–Hacia el desarrollo territorial rural sostenible 2015–2025. Quito.
- Minnesota Mining and Manufacturing Company. (2000). Placas Petrifilm 3M Placas Petrifilm para el recuento de Coliformes (Vol. 69). St. Paul, Minnesota,. Retrieved from <http://multimedia.3m.com/mws/media/444944O/petrifilm-aerobic-count-plate-interpretation-guide-spanish.pdf>
- Ortega, D. (2014). Elaboración y estudio de la variación del porcentaje de proteínas en salchichas de camarón crudo y cocido. Universidad Técnica de Machala.
- Owen, T. (2000). Fundamentos de la espectroscopía UV–visible moderna. (A. T. 2000, Ed.), Agilent Technologies. Alemania. <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- Peralta, C., Rivera, N., & Gualdrón, L. (2012). a partir de los cascotes de bovinos. *Revista Épsilon*, 59–69.
- Pereira, A., Mendes, E., Teixeira, J., Cardoso, G., De Lemos, A., Ramos, S., & Fontes, P. (2011). Effects of the addition of mechanically deboned poultry meat and collagen fibers on quality characteristics of frankfurter-type sausages. *MESC*, 89(4), 521. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.05.022>
- Pérez, M., & Ponce, E. (2013). Manual de prácticas de laboratorio. Tecnología de Carnes. Iztapalapa.

- ProEcuador. (2012). Perfil de camarón en estados unidos. Chicago.
- Quintero, J., & Zapata, J. (2017). Optimización de la Extracción del Colágeno Soluble en Ácido de Subproductos de Tilapia Roja (*Oreochromis spp*) mediante un Diseño de Superficie de Respuesta Optimization of the Extraction of Acid-Soluble Collagen from Byproducts Red Tilapia (*Oreochromis*, 28(1), 113. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642017000100011>
- Robalino, J., & Montaña, M. (2008). Aprovechamiento de Residuos Pesqueros para la obtención de Ácidos Grasos (Omega 3) en el Procesamiento de Productos Alimenticios, (Omega 3), 5. Retrieved from <https://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/19134>
- Rodríguez, J. (2013). Elaboración de Salchichón. Unviuersidad Francisco de Paula Santander. Retrieved from <http://je-salchichon.blogspot.com/2013/07/introduccion.html>
- Romero, R. (2016). Obtención de gelatina de piel de perico (*coryphaena hippurus*) y caracterización de sus propiedades fisicoquímicas”. Universidad Nacional Agraria la Molina.
- Rosero, R. (2015). Desarrollo y formulación de productos cárnicos utilizando aditivos a base de plantas endémicas del Ecuador. Universidad de las Américas.
- Sánchez, L. (2016). Extraccion de colageno y queratina partir de cascos de bovino como metodo de aprovechamiento de los residuos generados en el camal municipal de riobamba. Escuela Superior Politecnica de Chimborazo.
- Serrano, J. (2011). Estandarización de un proceso de extracción de colágeno a partir de los residuos de fileteo de tilapia (*Oreochromis sp*) y cachama (*Piaractus brachypomus*) / Standardization of a process for extracting collagen from filleting waste from tilapia (*Oreochromis*. Universidad Nacional de Colombia Facultad. Retrieved from <http://www.bdigital.unal.edu.co/4880/>
- Solari, A., & Córdova, J. (2015). Extracción de colágeno proveniente de residuos del procesamiento de *Engraulis ringens* Anchoveta. Ciencia E Investigación, 18(2), 66.
- Sousa, S., Sinara, P., Penna, C., Arcanjo, N., Silva, A., Ferreira, V., ... Araújo, I. (2016). Quality parameters of frankfurter-type sausages with partial replacement

- of fat by hydrolyzed collagen. Food Science and Technology Journal, 1, 4.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.034>
- Tenelema, M. (2017). "Obtención de colágeno de las patas de pollo con la aplicación de niveles de 2, 4, 6% de pepsina." Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Torres, W., Pacheco, R., Sotelo, R., Rouzaud, O., & Ezquera, J. (2008). Caracterización parcial del colágeno extraído a partir del manto, aleta y tentáculos de calamar gigante (*Dosidicus gigas*). Ciencia Y Tecnología Alimentaria, 9.
- Vasco, V. (2008). Determinación de parámetros físico_ químicos de zanahoria amarilla(*Daucus carota*) Como base para el establecimiento de la norma de requisitos. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Viquez, A. (2013). Los beneficios del camarón. Retrieved from <http://www.informasalud.com/los-beneficios-del-camaron/>
- Voet, D., & Voet, J. (2006). Bioquímica. (E. M. P. S.A, Ed.) (Tercera ed). Buenos Aires.
- Yuste, E. (2015). Desarrollo del diagrama de estado del gel-colágeno para la impresión de alimentos 3D. Universidad politécnica de Valencia.

ANEXOS

Anexo 1. Prueba descriptiva (Perfil de textura y sabor).

Nombre:

Fecha:

Nombre del producto:

Frente a usted hay dos muestra de colágeno, la cual debe observar, e ir describiendo las características de textura que estén presentes en la muestra.

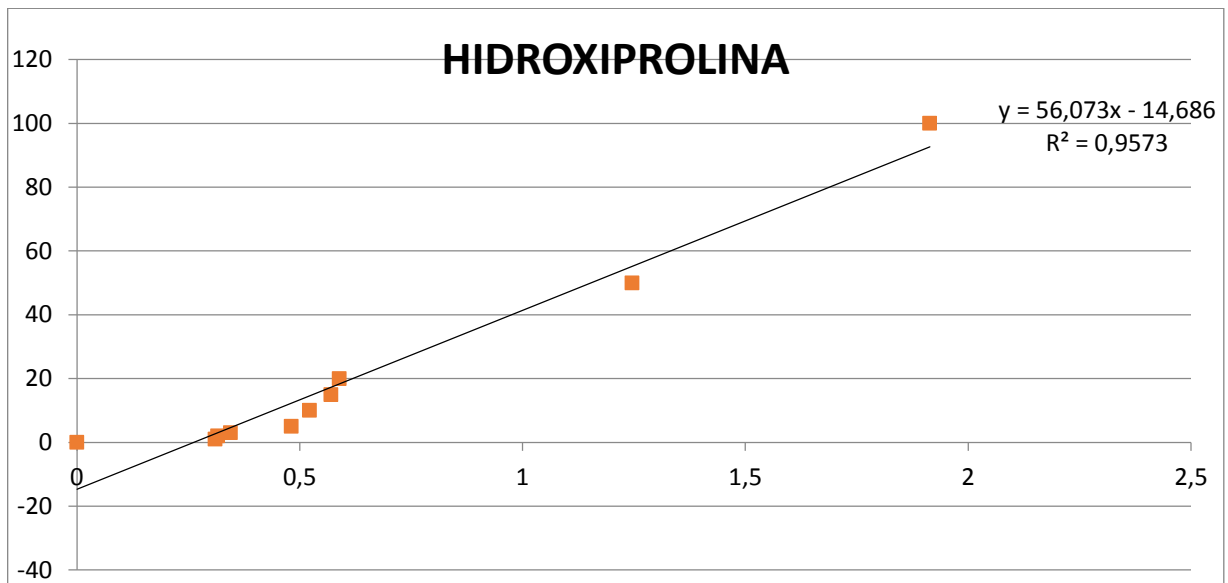
Marque con una X sobre la casilla del término que más describa lo que usted siente por la muestra.

TEXTURA	Atributos	1	2	3	4	5
Propiedades mecánicas	Blando					
	Firme					
	Duro					
	Resbaloso					
Propiedades geométricas	liso					
	celular					
	rugoso					
Propiedades de grasa y humedad	seco					
	húmedo					
	grasoso					
	aceitoso					
Propiedades de apariencia	brillante					
	pálido					
OLOR	Penetrante					
	Fétido					
	Mareante					
	Acre					
	Atípico					
COLOR	Blanco brillante					
	Blanco opaco					

	Blanco amarillento					
	Blanco					

GRACIAS POR SU PARTICIPACIÓN

Anexo 2. Curva patrón para el cálculo de hidroxiprolina.



Anexo 3. Análisis estadístico del contenido de humedad (%), de la salchicha de mariscos con diferentes niveles (2%, 4% y 6%) de colágeno.

A. ANÁLISIS DE VARIANZA.

F. Var	gl	S.C.	C. Medio	Fisher	P. Fisher
Total	15	33.29			
Niveles de Colágeno (%)	3	33.15	11.05	957.84	1.5E-14
Error	12	0.14	0.01		
CV %			0.54		
Media			19.82		

B. SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY.

Niveles de Colágeno (%)	Media	Grupo
0	17.63	d
2	19.50	c
4	20.75	b
6	21.41	a

Anexo 4. Análisis estadístico del contenido de cenizas (%), de la salchicha de mariscos con diferentes niveles (2%, 4% y 6%) de colágeno.

A. ANÁLISIS DE VARIANZA.

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad.	C. Medio	Fisher	P. Fisher
Total	15	5.80			
Niveles de Colágeno (%)	3	1.24	0.41	1.09	3.9E-01
Error	12	4.56	0.38		
CV %			5.92		
Media			10.40		

B. SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY.

Niveles de Colágeno (%)	Media	Grupo
0	10.60	a
2	10.74	a
4	10.23	a
6	10.05	a

Anexo 5. Análisis estadístico del contenido de humedad (%), de la salchicha de mariscos con diferentes niveles (2%, 4% y 6%) de colágeno.

A. ANÁLISIS DE VARIANZA.

F. Var	gl	S. Cuad.	C. Medio	Fisher	P. Fisher
Total	15	22.32			
Niveles de Colágeno (%)	3	21.31	7.10	83.86	2.6E-08
Error	12	1.02	0.08		
CV %			0.48		

Media	60.99
-------	-------

B. SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY.

Niveles de Colágeno (%)	Media	Grupo
0	62.95	a
2	60.66	b
4	60.31	bc
6	60.03	c

Anexo 6. Análisis estadístico del contenido de grasa (%), de la salchicha de mariscos con diferentes niveles (2%, 4% y 6%) de colágeno.

A. ANÁLISIS DE VARIANZA.

F. Var	gl	S. Cuad.	C. Medio	Fisher	P. Fisher
Total	15	0.90			
Niveles de Colágeno (%)	3	0.83	0.28	45.83	7.6E-07
Error	12	0.07	0.01		
CV %			0.92		
Media			8.40		

B. SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY.

Niveles de Colágeno (%)	Media	Grupo
0	8.52	b
2	8.70	a
4	8.26	c
6	8.11	c

Anexo 7. Análisis estadístico del contenido de extracto libre de nitrógeno(%), de la salchicha de mariscos con diferentes niveles (2%, 4% y 6%) de colágeno.

A. ANÁLISIS DE VARIANZA.

F. Var	gl	S. Cuad.	C. Medio	Fisher	P. Fisher
Total	15	0.05			
Niveles de Colágeno (%)	3	0.04	0.01	20.05	5.8E-05
Error	12	0.01	0.00		
CV %			6.90		
Media			0.38		

B. SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY.

Niveles de Colágeno (%)	Media	Grupo
0	0.303	c
2	0.388	b
4	0.445	a
6	0.393	ab

Anexo 8. Análisis estadístico del pH, de la salchicha de mariscos con diferentes niveles (2%, 4% y 6%) de colágeno.

A. ANÁLISIS DE VARIANZA.

F. Var	gl	S. Cuad.	C. Medio	Fisher	P. Fisher
Total	15	0.33			
Niveles de Colágeno (%)	3	0.31	0.10	91.29	1.6E-08
Error	12	0.01	0.00		
CV %			0.53		
Media			6.34		

B. SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY.

Niveles de Colágeno (%)	Media	Grupo
0	6.56	a
2	6.36	b
4	6.19	c
6	6.24	c

Anexo 9. Análisis estadístico de la capacidad de retención de agua (%), de la salchicha de mariscos con diferentes niveles (2%, 4% y 6%) de colágeno.

A. ANÁLISIS DE VARIANZA.

F. Var	gl	S. Cuad.	C. Medio	Fisher	P. Fisher
--------	----	----------	----------	--------	-----------

Total	15	15.43			
Niveles de Colágeno (%)	3	15.06	5.02	163.44	5.4E-10
Error	12	0.37	0.03		
CV %			0.73		
Media			23.85		

B. SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY.

Niveles de Colágeno (%)	Media	Grupo
0	22.64	c
2	23.16	b
4	24.73	a
6	24.87	a

Anexo 10. Análisis estadístico de la capacidad de emulsificación (%), de la salchicha de mariscos con diferentes niveles (2%, 4% y 6%) de colágeno.

A. ANÁLISIS DE VARIANZA.

F. Var	gl	S. Cuad.	C. Medio	Fisher	P. Fisher
Total	15	2114.28			
Niveles de Colágeno (%)	3	2055.15	685.05	139.02	1.4E-09
Error	12	59.13	4.93		
CV %			5.47		
Media			40.61		

B. SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY.

Niveles de Colágeno (%)	Media	Grupo
0	28.57	d
2	33.86	c
4	41.43	b
6	58.57	a

Anexo 11. Análisis estadístico del atributo de dureza, de la salchicha de mariscos con diferentes niveles (2%, 4% y 6%) de colágeno.

A. ANÁLISIS DE VARIANZA.

F. Var	gl	S. Cuad.	C. Medio	Fisher	P. Fisher
Total	15	4.63			
Niveles de Colágeno (%)	3	2.69	0.90	5.54	0.01
Error	12	1.94	0.16		
CV %			14.23		
Media			2.83		

B. SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY.

Niveles de Colágeno (%)	Media	Grupo
0	3.26	ab
2	2.46	ab
4	2.38	b
6	3.21	a

Anexo 12. Análisis estadístico del atributo de elasticidad, de la salchicha de mariscos con diferentes niveles (2%, 4% y 6%) de colágeno.

A. ANÁLISIS DE VARIANZA.

F. Var	gl	S. Cuad.	C. Medio	Fisher	P. Fisher
Total	15	4.13			
Niveles de Colágeno (%)	3	2.25	0.75	4.80	0.02
Error	12	1.88	0.16		
CV %			16.07		
Media			2.46		

B. SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY.

Niveles de Colágeno (%)	Media	Grupo
0	3.02	a
2	2.46	ab
4	1.96	b
6	2.42	ab

Anexo 13. Análisis estadístico del atributo pálido, de la salchicha de mariscos con diferentes niveles (2%, 4% y 6%) de colágeno.

A. ANÁLISIS DE VARIANZA.

F. Var	gl	S. Cuad.	C. Medio	Fisher	P. Fisher
Total	15	1.54			
Niveles de Colágeno (%)	3	0.90	0.30	5.67	0.01
Error	12	0.64	0.05		
CV %			8.22		
Media			2.80		

B. SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY.

Niveles de Colágeno (%)	Media	Grupo
0	2.91	ab
2	2.50	b
4	3.13	a
6	2.67	ab